



Facultad de Veterinaria  
**Universidad** Zaragoza



# Trabajo Fin de Master en

## Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos

Efectos de la inclusión de guisantes en la calidad de carne de terneros.

Effects of the inclusion of peas in the meat quality of young bulls.

Autor/es

Alvaro López Rodríguez.

Director/es

Mireia Blanco Alibés e Isabel Casasús Pueyo.

Facultad de Veterinaria

2018

---



## **AGRADECIMIENTOS**

- Deseo agradecer al Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón en cuyas instalaciones se ha realizado este trabajo.
- Agradecimiento al proyecto que lo financia:

“Efecto de la inclusión del guisante como fuente proteica alternativa y del nivel energético de la dieta sobre la eficiencia en el cebo de rumiantes” INIA (Proyectos de Investigación Fundamental Orientada y Acciones Complementarias en el Marco del Programa Estatal De I+D+i Orientada a los Retos de la Sociedad (Reto de la Seguridad y Calidad Alimentaria, Actividad Agraria Productiva y Sostenible, Sostenibilidad de los Recursos Naturales e Investigación Marina y Marítima) RTA2014-00038-C02-00.

- A Mireia Blanco e Isabel Casasús por aceptarme en el presente trabajo y por su ayuda y dedicación para la realización de este TFM.
- A todo el personal de laboratorio (Pilar, Andrés...), y en especial, a Angelines y Juanra que estuvieron ayudándome y asesorando en todos los análisis que realicé en el laboratorio.
- A Miguel Ángel por su ayuda en la preparación de las muestras.
- En general, a todo el personal del Departamento de Producción y Sanidad Animal que han puesto un granito de arena en la realización de este trabajo que me permite finalizar el Master en Calidad, Seguridad y Tecnología Alimentaria.



## **RESUMEN**

Los sistemas intensivos de cebo de terneros mayoritarios en España, con dietas a base de pienso y paja a libertad, son altamente dependientes de la soja importada desde terceros países. Su sustitución por otras fuentes proteicas como las leguminosas de producción local ayudaría a minimizar la dependencia comercial y a reducir el rechazo social que genera la soja, debido a sus efectos negativos en los países donde se cultiva y por ser un producto modificado genéticamente.

En este marco, el objetivo del estudio es evaluar el efecto de la tasa de inclusión de guisantes en sustitución de la soja en los piensos de cebo de ganado vacuno sobre las características de la carne. Para ello, se alimentaron 32 terneros de raza Parda de Montaña con paja y pienso a voluntad. Los terneros se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos con diferente inclusión de guisante en el pienso (0, 15, 30 y 45%G) en sustitución de la soja. Los terneros se cebaron hasta que alcanzar un peso de sacrificio de 500 kg. Tras el oreo de las canales, se extrajeron los músculos *Longissimus thoracis* (LT) y *Semitendinosus* (ST) para realizar los posteriores análisis físico-químicos de la carne. Se estudió la evolución del color y la oxidación lipídica del músculo LT a lo largo de la exposición al oxígeno, la dureza (mediante el esfuerzo máximo), composición química y perfil de ácidos grasos de los dos músculos.

Aunque los piensos fueron formulados para ser iso-energéticos e iso-proteicos, su contenido en proteína, fibra ácido detergente y grasa se incrementó ligeramente con la inclusión de guisante en el pienso, por el alto valor nutricional del guisante utilizado en este trabajo.

El color del músculo LT se vio afectado en escasa medida por la inclusión de guisante, solamente el índice de rojo ( $a^*$ ), índice de amarillo ( $b^*$ ) y saturación ( $C^*_{ab}$ ) se vieron afectados por la interacción entre tasa de inclusión de guisante en el pienso y el tiempo de exposición al oxígeno, con ligeras diferencias entre tratamientos al inicio y final del periodo.

Este estudio evidenció una mayor terneza en el músculo LT de los terneros alimentados con piensos con mayor proporción de guisantes, aunque ésta fue mayor en los terneros 30%G que en los 45%G. Por el contrario, el músculo ST de los terneros 30%G presentó mayor esfuerzo máximo (menor terneza) que el de los terneros 45%G.

La tasa de inclusión de guisante no afectó a la composición química de ninguno de los músculos, salvo en la grasa del músculo ST, que fue inferior en los terneros 15%G al resto de terneros.

El efecto de la tasa de inclusión de guisante en la concentración de ácidos grasos individuales fue escaso en ambos músculos. Los terneros alimentados con piensos sin guisante (0%G) presentaron una menor concentración de ácido  $\alpha$ -linolénico en el músculo LT con respecto al resto de terneros. Las concentraciones de ácidos grasos saturados, mono- (AGMI) y poli-insaturados (AGPI) no difirieron entre tratamientos en el músculo LT pero los terneros 30%G presentaron menor ratio n-6:n-3 que los terneros 0%G y 15%G. En el músculo ST, también se produjeron diferencias en el ratio n-6:n-3 debido al menor nivel de los terneros 30%G, ya que su concentración de AGPI n-6 fue menor que los terneros 0%G y 15%G. Además, los terneros 0%G presentaron mayor DMA-C16:0 que el resto de terneros.

La oxidación lipídica fue similar entre tratamientos en los primeros 6 días de exposición al oxígeno, pero desde este momento la carne de los terneros que recibieron el 15% de guisante presentó mayor oxidación.

De los resultados obtenidos, se puede concluir que es posible sustituir parcial o totalmente la soja por guisante debido a los escasos, aunque positivos, efectos observados. Por tanto, la elección de los ingredientes del pienso dependerá de la disponibilidad y precio relativo de las materias disponibles.

## **SUMMARY**

The intensive systems of fattening of young bulls in Spain, based on concentrates and straw on ad libitum basis, are highly dependent on soya imported from other countries. Its replacement by other protein sources such as local legumes would help to minimize commercial dependence and reduce the social rejection generated by soya, due to the negative effects in the countries where it is grown and for being a genetically modified product.

In this framework, the objective of the study is to evaluate the effect of the inclusion rate of peas in substitution of soybeans in the fattening concentrate of young bulls on beef quality. Thirty-two Parda de Montaña recently weaned calves were fed with straw and concentrates on ad libitum basis. The concentrates were formulated to be iso-energetic and iso-proteic. The calves were randomly distributed in four treatments with different inclusion of pea in the concentrate (0, 15, 30 and 45%G) in substitution of soybean. The young bulls were fattened until they reached a slaughter weight of 500 kg. After cooling of the carcasses, the Longissimus thoracis (LT) and Semitendinosus (ST) muscles were extracted. The following parameters were evaluated: evolution of the color and the lipid oxidation of the LT muscle, the toughness (through the maximum stress), chemical composition and fatty acid profile of the two muscles.

Although the concentrates were formulated to be iso-energetic and iso-proteic, the crude protein, acid detergent fiber and fat contents increased slightly with the inclusion of pea, due to the high nutritional value of the pea used.

The inclusion of pea only affected to a small extent the color of the LT muscle, only the redness ( $a^*$ ), yellowness ( $b^*$ ) and saturation ( $C^*_{ab}$ ) were affected by the interaction between the pea inclusion rate and the time of exposure to oxygen, with slight differences between treatments at the beginning and end of the oxidation period.

Maximum stress was affected by the interaction of the rate of inclusion of pea and aging in both muscles. This study demonstrated a greater tenderness in the LT muscle as the proportion of peas increased in the concentrate, although it was higher in 30%G than in 45%G young bulls. On the other hand, the ST muscle 30%G bulls presented greater maximum stress (lower tenderness) than 45%G bulls.

The rate of inclusion of pea did not affect the chemical composition of any of the two muscles, except for fat content in ST muscle, which was lower in 15%G bulls than in their counterparts.

The rate of inclusion of pea had minor effects on individual fatty acids in both muscles. Only, 0%G bulls presented a lower concentration of  $\alpha$ -linolenic acid in LT than their counterparts. On the other hand, the concentration of saturated fatty acids (SFA), mono- (MUFA) and poly-unsaturated fatty acids (PUFA) did not differ between treatments in LT muscle, but 30%G bulls presented lower n-6:n-3 ratio than 0%G and 15%G bulls. In the ST muscle, there were also differences in the ratio n-6:n-3 due to the lower values observed in 30%G bulls, as their concentration of PUFA n-6 was lower than 0%G and 15%G. In addition, 0%G bulls had higher DMA-C16:0 than the rest.

The lipid oxidation was similar between treatments in the first 6 days of exposure to oxygen, but from this moment onwards, lipid oxidation was greatest for the 15%G bulls.

In conclusion, it is possible to partially or totally substitute soybean with pea due to the minor, although positive, effects observed. Therefore, the choice of the ingredients used in the concentrate will depend on the availability and relative price of the available materials.



# ÍNDICE GENERAL

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1	IMPORTANCIA DEL GANADO BOVINO EN ESPAÑA Y ARAGÓN.....	1
1.2	INCLUSIÓN DE LEGUMINOSAS GRANO EN LOS PIENSOS DE CEBO DE VACUNO: EL GUISANTE.....	2
1.3	EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE GUISANTE EN LOS PIENSOS SOBRE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD DE LA CARNE.....	4
1.3.1	<i>Color del músculo</i> .....	5
1.3.2	<i>Terneza</i> .....	6
1.3.3	<i>Composición química</i> .....	7
1.3.4	<i>Ácidos grasos de la carne</i> .....	8
1.3.5	<i>Oxidación lipídica</i> .....	9
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
3.1	ANIMALES.....	12
3.2	MUESTREOS .....	13
3.3	ANÁLISIS REALIZADOS .....	14
3.3.1	<i>Composición química y ácidos grasos de los piensos</i> .....	14
3.3.2	<i>Color de la carne</i> .....	15
3.3.3	<i>Dureza de la carne</i> .....	16
3.3.4	<i>Composición química y colesterol de la carne</i> .....	17
3.3.5	<i>Ácidos grasos de la carne</i> .....	18
3.3.6	<i>Oxidación lipídica</i> .....	18
3.4	ESTADÍSTICA .....	19
<b>4</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
4.1	PIENSO.....	21
4.1.1	<i>Composición química</i> .....	21
4.1.2	<i>Composición de ácidos grasos</i> .....	22
4.2	CARNE .....	23
4.2.1	<i>Color del músculo longissimus thoracis</i> .....	23
4.2.2	<i>Terneza de los músculos longissimus thoracis y semitendinosus</i> .....	27
4.2.3	<i>Composición química de los músculos longissimus y semitendinosus</i> .....	28
4.2.4	<i>Ácidos grasos de los músculos longissimus thoracis y semitendinosus</i> .....	29
4.2.5	<i>Oxidación lipídica del músculo longissimus thoracis</i> .....	32
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>37</b>

## **ÍNDICE DE TABLAS**

- Tabla 1. Ingredientes de los piensos de cebo según la inclusión de guisante (G).....	12
- Tabla 2. Composición química (media $\pm$ desviación estándar) de los piensos según la tasa de inclusión de guisante (G).....	21
- Tabla 3. Composición de ácidos grasos (media $\pm$ desviación estándar) de los piensos según la tasa de inclusión de guisante (G).....	22
- Tabla 4. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (%G) en el pienso sobre la composición química y el colesterol en los músculos <i>longissimus thoracis</i> (LT) y <i>semitendinosus</i> (ST).....	29
- Tabla 5. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) en el contenido de ácidos grasos en el músculo <i>longissimus thoracis</i> (LT) y en el <i>semitendinosus</i> (ST).....	30
- Tabla 6. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) en los contenidos totales de ácidos grasos saturados (AGS), mono-insaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI), linoleico conjugado (CLA) en los músculos <i>longissimus</i> (LT) y <i>semitendinosus</i> (ST).....	31

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

- Figura 1. Terneros experimentales de raza Parda de Montaña.....	2
- Figura 2. Guisante primavera.....	3
- Figura 3. Terneros experimentales de raza Parda de Montaña.....	11
- Figura 4. Muestras de carne para el análisis de dureza.....	16
- Figura 5. Evolución de la luminosidad ( $L^*$ ) y el tono ( $h_{ab}$ ) del músculo <i>longissimus thoracis</i> durante la exposición al oxígeno.....	24
- Figura 6. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros sobre el índice de rojo ( $a^*$ ) del músculo <i>longissimus thoracis</i> .....	24
- Figura 7. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros sobre el índice de amarillo ( $b^*$ ) del músculo <i>longissimus thoracis</i> .....	25
- Figura 8. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros sobre el índice $C^*_{ab}$ del músculo <i>longissimus thoracis</i> .....	26
- Figura 9. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de los terneros sobre el esfuerzo máximo ( $E_{max}$ ) en el músculo <i>longissimus thoracis</i> (LT) y <i>semitendinosus</i> (ST) a lo largo de la maduración.....	27
- Figura 10. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso sobre la oxidación lipídica según la exposición al oxígeno.....	33

# **1 INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Importancia del ganado bovino en España y Aragón**

En la actualidad, el sector vacuno representa en España el 5,9% de la producción agroalimentaria. La producción de vacuno corresponde un 17,1% de la producción final ganadera nacional, se estima que se encuentra en la cuarta posición por detrás del sector porcino, lácteo y avicultura.

España tiene un total de 6 millones de cabezas de vacuno repartidas en 149.536 explotaciones, situándose en la sexta posición a nivel europeo, por detrás de países como Francia, Reino Unido, Alemania, Irlanda o Italia (MAPAMA, 2017). Estas cabezas de ganado vacuno están divididas en dos subsectores: el de vaca nodriza que está orientado a la cría de terneros para su utilización en la industria cárnica y el de vacuno de cebo en el que se ceba a los animales de forma intensiva a base de pienso y paja para su posterior sacrificio (MAPAMA, 2009). Actualmente, el censo de vacuno en España es bastante estable, aunque, se está produciendo un incremento considerable de la producción de carne de vacuno ecológica amparada por denominaciones de calidad al igual que ocurre en la Unión Europea (MAPAMA, 2017). A pesar de esta estabilidad en el censo nacional, el consumo de carne de vacuno se está reduciendo, situándose en 2016 en 5,6 kg por persona y año, con una demanda claramente estacional, mayor en los meses fríos y ligeramente menor en los meses de verano. La disminución en la demanda del consumo nacional y el aumento de ésta en terceros países, hacen de la exportación una estrategia clave para el sector.

En España, las comunidades autónomas de mayor producción de carne de vacuno son Cataluña, Castilla y León y Galicia. Aragón se encuentra en la sexta posición con un 5% de la producción nacional (MAPAMA, 2018). Entre las razas mayoritarias utilizadas para la producción de vacuno en Aragón destaca la raza Parda de Montaña, con 21.532 cabezas de vacas nodrizas (MAPAMA, 2017). Esta es una raza autóctona cuyo origen está ligado a la raza Parda Alpina (o Parda Suiza), la cual era criada para la producción de leche y cría de terneros. El objetivo de su introducción en España en el siglo XIX fue la producción de leche, pero finalmente el declive de esta producción en las zonas de montaña condujo a su utilización para la producción de terneros para cebo (Sanz y cols., 2001). En cuanto al sistema de producción, se realiza un modelo mixto de estabulación

## *Introducción*

invernal mediante el uso de forrajes y pastoreo en diferentes superficies forrajeras (praderas, pastos intermedios y puertos), con cebo de los terneros tras el destete en condiciones generalmente intensivas a base de concentrados y paja.

Su fisonomía es de animales largos, anchos y profundos, con un desarrollo medio y un color pardo más o menos oscuro. El peso que suele alcanzar aproximadamente es de 600 y 950 kg para hembras y machos respectivamente. Se trata de una raza con un buen ritmo de crecimiento, en torno a 1,5-1,7 kg/d, en cebo convencional (Blanco y cols, 2008).



Figura 1. Terneros experimentales de raza Parda de Montaña.

### **1.2 Inclusión de leguminosas grano en los piensos de cebo de vacuno: el guisante**

En los sistemas intensivos y altamente especializados, como es el caso del cebo de terneros, se plantean una serie de retos para mejorar la producción en el sector como son: aumentar su eficiencia productiva, minimizar los impactos ambientales, reducir la competencia por alimentos de posible consumo humano y aumentar la autosuficiencia de las explotaciones. Actualmente, Europa es muy dependiente de las importaciones de soja y granos (principalmente América) para su utilización en piensos de alimentación animal. Esto hace que el sector ganadero se vea muy afectado por la volatilidad y fluctuaciones del precio de la soja, que ha oscilado en pocos años entre 200 y 500 euros por tonelada. Además, cabe destacar el impacto negativo de su cultivo en la sociedad y medio ambiente (huella de carbono e hídrica, cambios en el uso de la tierra del cultivo de soja) en los lugares de producción (Henriksson y cols., 2014) y el rechazo social por

tratarse de un producto modificado genéticamente (van Krimpen y cols., 2013) en los países destino (Steen-Olsen y cols., 2012).

En la actualidad hay un creciente interés científico y político en la búsqueda de fuentes proteicas locales para alimentación animal que abaraten costes de producción. Una de estas fuentes son las leguminosas en grano que además de su valor proteico y energético, tienen un interés agronómico debido a su capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico y mejorar la fertilidad del suelo (Hörtenhuber y cols., 2011; Duinkerken y cols., 2013). Las leguminosas en grano son un producto tradicional de las zonas mediterráneas (Rotger y cols., 2006), aunque tuvieron una disminución de su producción en el siglo XX debido a la aplicación de políticas que favorecían la producción de cereales en detrimento de estas, y a las ayudas en la importación de leguminosas de calidad (Peyraud y cols., 2014).

Los efectos positivos del cultivo de leguminosas en grano locales para su uso como fuente proteica en vez de la soja son varios. En primer lugar, se produce una reducción de la presión sobre el uso de la tierra y el consumo de agua y fertilizantes asociados al cultivo de soja en origen que provoca una pérdida de biodiversidad, biomasa y stock de carbono en el suelo, además de una mayor contaminación de los recursos hídricos (Hoekstra y Mekonnen, 2012). Además, promueven mayor diversidad de especies y paisajes, fijación del nitrógeno atmosférico e incremento del contenido en materia orgánica en suelos (Jensen y cols., 2012). Por lo tanto, su cultivo es garantía de un modelo de agricultura más sostenible y ecológico (Voisin y cols., 2014).

Entre las leguminosas grano, destaca por su interés el guisante, que ha seguido una línea ascendente en la producción. En Aragón, se ha pasado de una producción de 6.186 ha en 2008, a 30.407 ha en 2012 con una producción de 2.672 kg/ha en secano y 3.266 kg/ha en regadío (Gutiérrez, 2014).



Figura 2. Guisante primavera.

Los guisantes son un tipo de leguminosas que pertenecen al género *Pisum*. La variedad de guisante que se utiliza para los piensos compuestos corresponde a la variedad *Pisum sativum hortense* mientras que la subespecie *arvense* se utiliza para forrajes. Dentro de la subespecie *hortense*, las más utilizadas en España para la formulación de piensos son las variedades de primavera que provienen de Francia y Australia y suponen el 97% de la producción total. Se trata de un ingrediente de gran calidad para alimentación animal, tiene una gran palatabilidad y un bajo contenido de factores antinutritivos en comparación con la soja (FEDNA, 2017).

Las variedades más usadas tienen un contenido en proteína entre el 18 y el 24%. Las proteínas que predominan son las globulinas solubles en agua que constituyen el 60-75% de la proteína total. La proteína es rica en lisina y su digestibilidad es elevada, aunque inferior a la de soja. El nivel de grasa que presenta es bajo (1,5%), siendo altamente insaturada (49% de linoleico y 11% de linolénico). Los hidratos de carbono representan casi el 70%, donde cabe destacar el alto contenido en almidón (42%), azúcares solubles (4%), oligosacáridos (5%) y pared celular (12% fibra neutro detergente (FND)) (Güemes, 2007; FEDNA, 2017).

La harina de guisante, en comparación con la de soja, contiene dos veces menos proporción de celulosa y proteína, mayor concentración de almidones, mono y disacáridos, y un contenido mineral similar (Güemes, 2007).

Los guisantes, como otras leguminosas, son de fácil manejo y conservación en transporte y fábrica, y su inclusión en los piensos favorece la granulación. La composición química es poco variable salvo el contenido en proteína, como se ha indicado previamente, dependiendo generalmente de la variedad utilizada. Esto provoca que las muestras con más proteína tienden a tener más fibra y menos almidón, aunque también un menor contenido de humedad (FEDNA, 2017).

### **1.3 Efecto de la inclusión de guisante en los piensos sobre los atributos de calidad de la carne**

La calidad de la carne se evalúa mediante una serie de atributos que pueden valorarse mediante determinaciones instrumentales (aspectos como pH, composición química, esfuerzo necesario para el corte medido con la célula de Warner-Bratzler o color medido mediante espectrofotometría) y sensoriales (la ternura, la jugosidad y el sabor

por consumidores o paneles entrenados) (Ripoll y cols., 2014). Por su relación con los parámetros presentados en esta memoria, nos centraremos en los evaluados mediante determinaciones instrumentales.

### **1.3.1 Color del músculo**

El color de la carne es el resultado de la distribución espectral de la luz que la ilumina, y de la intensidad reflejada por su superficie. Se considera como una característica tridimensional de los objetos, determinada por un atributo de claridad y dos cromáticos, el tono y la saturación.

El color es una característica muy valorada por el consumidor en el momento de compra ya que lo consideran relacionado con la calidad y frescura.

A partir de la cuantificación mediante espectrofotometría, se puede medir el espacio de color CIELAB que permite analizar diversos aspectos del color. Estos son la luminosidad ( $L^*$ ), con valores entre 0 (negro) y 100 (blanco); el índice de rojo ( $a^*$ ), entre -60 (verde) y 60 (rojo); el índice de amarillo ( $b^*$ ), entre -60 (azul) y 60 (amarillo); el tono ( $h_{ab}$ ) y la saturación ( $C^*_{ab}$ ). En la carne de vacuno, los valores suelen ser mayores de 35 para la luminosidad y positivos para el rojo y amarillo (Albertí y cols., 2016).

El color de la carne está determinado por 3 factores fundamentales (Renerre, 1986):

- Concentración de mioglobina: cuanto mayor es el animal, más cantidad de mioglobina tiene, lo que provoca un mayor enrojecimiento de la carne. Su papel es almacenar y transportar oxígeno al músculo. Está relacionado con la saturación ( $C^*_{ab}$ ) y el tono ( $h_{ab}$ ).
- Estado físico de la carne: las carnes con bajo pH pierden la capacidad de retener el agua, las cadenas proteicas dan una estructura cerrada que impide que la luz penetre, dando un color más claro. En cambio, las carnes con altos pH absorben más agua, las fibras musculares se hinchan y la estructura miofibrilar es más abierta, reflejando una menor cantidad de luz en la superficie, y su color aparece más oscuro. Está relacionado con la luminosidad ( $L^*$ ).
- Estado químico del pigmento en la superficie: si la carne está expuesta al aire (oximioglobina) se produce un color rojo intenso; en cambio, si la carne está en una atmósfera libre de oxígeno (desoximioglobina) se genera un color más morado. Por

último, cuando la carne llega al límite de su vida útil y se empieza a deteriorar (metamioglobina) se produce un color pardo. Está relacionado con el tono ( $h_{ab}$ ).

Por lo tanto, mientras la carne se oxida se produce un cambio de color, la luminosidad se mantiene más o menos estable y el tono va disminuyendo hasta que se produce un aumento brusco, momento en el cual el aspecto del producto sería rechazado por los consumidores. Esto quiere decir que el color es un importante indicativo de la vida útil de la carne (Ripoll y cols., 2012).

Además de la oxidación, existen otros factores importantes que influyen en el color de la carne como son la raza, el estrés del animal previo al sacrificio y la alimentación de los animales (Albertí y cols., 2016). Para determinar el efecto de la composición en materias primas del pienso de cebo, Corrazzin y cols. (2017) compararon el color la carne de terneros que habían sido alimentados con distintas fuentes proteicas, como son la soja y el guisante, observando una mayor luminosidad en el caso del guisante.

Otros estudios llevados a cabo con corderos demostraron diferencias en la saturación de la carne debido a la inclusión de guisante en el pienso (30%) (Oliver, 2017). Por otro lado, Lanza y cols, (2003) y Lanza y cols, (2011) realizaron medidas del color a las 2 horas del corte y no encontraron diferencias por la inclusión de guisante. Sin embargo, en otro estudio, la inclusión de 40% de guisante en corderos incrementó el índice de rojo ( $a^*$ ) sin afectar a la luminosidad ( $L^*$ ) e índice de amarillo ( $b^*$ ) (Colonna y cols., 2014).

### 1.3.2 Terneza

La textura está directamente relacionada con el grosor de las fibras musculares y del tejido conectivo que rodea a cada una de ellas. Estas características de las fibras dependen de varios factores como son la capacidad de retención de agua, la resolución del *rigor mortis* y el contenido intramuscular de agua y tejido conectivo (Teira, 2004).

La terneza determina la calidad y aceptabilidad de la carne (Fernández y Sánchez, 2014). Se define como la facilidad con la que una carne se puede cortar o masticar (Peluffo y Monteiro, 2002). Cabe destacar que los consumidores la consideran el factor más importante para determinar la calidad de una carne, por lo que tiene una relación muy importante con su precio (Teira, 2004).



La terneza de la carne depende del grado de grasa infiltrada (marmoleado o veteado) así como del tipo de músculo, tanto por el ejercicio previo como por grado de tensión al que haya sido expuesto durante la maduración de la canal. El lomo es uno de los músculos con mayor terneza y una de las piezas más valoradas de la canal, junto al solomillo. De hecho, entre los diez principales músculos bovinos es el que mayor valor comercial tiene aun siendo uno de los que menos jugosidad y sabor presenta (Koochmaraie y cols., 1997).

Además, la variabilidad de terneza en la carne se debe a diversos factores *ante-* y *post-mortem*. Los segundos son más importantes, al ser responsables del 85% de los cambios en la terneza, por la degradación de las proteínas a causa de procesos enzimáticos en los que la calpastatina juega un papel muy importante. Cuanto mayor es la actividad de esta enzima, mayor dureza presenta la carne. También, cuanto mayor es la edad del animal, más dureza presenta su carne debido al mayor número de enlaces cruzados intermoleculares entre las fibrillas de colágeno (Teira, 2004).

La maduración también es un factor importante con el que se puede lograr una mejoría de la terneza si se realiza en unos periodos adecuados. Este proceso provoca una mayor actividad enzimática que induce la proteólisis y consecuentemente, una carne más tierna.

Con respecto a los factores *ante-mortem*, destacan el tipo de raza, el estrés previo al sacrificio, sexo, madurez fisiológica y la alimentación. Un rápido crecimiento y la utilización de piensos concentrados de alto poder energético provocan un alto índice de síntesis de colágeno. Esto provoca que el nuevo colágeno diluya al antiguo que es estable al calor, lo que hace que el colágeno sea más inestable y en consecuencia se forme un músculo con mayor terneza (Peluffo y Monteiro, 2002).

El efecto sobre la terneza del uso de guisantes en el cebo de terneros ha sido poco estudiado, pero las pocas investigaciones realizadas denotan una mayor terneza instrumental o sensorial de la carne (Jenkins y cols., 2011; Maddock y cols., 2013; Hinkle y cols., 2010).

### **1.3.3 Composición química**

La composición química de la carne de vacuno varía dependiendo de la pieza. El lomo es una de las piezas más energéticas con 166 Kcal/100g, por su mayor porcentaje de

grasa (8,8%) en comparación con otras piezas. Aún así, su contenido es moderado.

El contenido en agua del lomo es de un 68,5% (Valero y cols., 2010), siendo agua mayoritariamente libre que se encuentra entre los espacios de los filamentos de actina y miosina, con un pequeño porcentaje de agua ligada a proteínas (Cañeque y Sañudo, 2005). Según el estudio de Corazzin y cols. (2017), no existen diferencias en el contenido en cenizas y materia seca de carne de terneros alimentados con soja o guisantes. Al igual que en el anterior estudio, Lanza y cols. (2011) no encontraron diferencias en el contenido de cenizas y materia seca en la carne de cordero.

El contenido de proteína del lomo es de un 20,6%. Esto denota el alto poder proteico de la carne de vacuno, además de ser proteína de un alto valor biológico, ya que aporta todos los aminoácidos esenciales que requiere el ser humano en las cantidades necesarias. También se trata de proteína altamente digestible y fácilmente absorbible (Cañeque y Sañudo, 2005).

En cuanto al músculo *Semitendinosus*, el contenido de cenizas y humedad es muy similar al del lomo, pero tiene unos niveles un poco más bajos en el contenido de proteína y grasa. Según Amine (2015), en un estudio con carne de vacuno encontró porcentajes de grasa del 3,82% en el lomo y de un 3,18% en el músculo *Semitendinosus*.

En cuanto al efecto de la inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros, Corazzin y cols. (2017) no encontraron diferencias entre distintas muestras de lomo de terneros que habían sido alimentados con suplementos de soja o guisante en el pienso, aunque la inclusión de guisante tendió a incrementar el contenido de grasa en la carne. En ovino, la inclusión de guisante en el pienso no afectó ni a la proteína bruta ni a la grasa bruta del músculo (Scerra y cols., 2011; Lanza y cols., 2011).

### **1.3.4 Ácidos grasos de la carne**

La grasa es un componente indispensable para en el funcionamiento de nuestro organismo, pero actualmente su interés radica en su papel en el desarrollo de ciertas enfermedades cardiovasculares, debidas no tanto a la cantidad de grasa consumida como al tipo de ácidos grasos ingeridos, especialmente los ácidos grasos saturados (AGS) que son los más perjudiciales. Además de otros ácidos grasos, los rumiantes son capaces de sintetizar ácido linoleico conjugado (CLA; por sus siglas en inglés),

beneficioso por sus propiedades anticarcinogénicas (Oliver, 2017).

La composición de la grasa influye en muchas características relacionadas con la calidad de la carne. Así, una grasa más insaturada es más inestable, tiene un color más intenso y amarillo, se funde a menor temperatura, y presenta menor firmeza (Wood y cols., 2004).

Del contenido en grasa de 100 gramos de lomo, el 4,13% son ácidos grasos monoinsaturados, el 4,06% son saturados y únicamente el 0,61% son poliinsaturados (Valero y cols., 2010). Desde el punto de vista de la nutrición humana, es deseable el predominio de las grasas insaturadas frente a las saturadas y una proporción adecuada entre ácidos grasos omega-6 y omega-3 (no mayor de 2 a 1).

En la carne de terneros alimentados con soja o guisante, Corazzin y cols. (2017) no hallaron diferencias significativas en la proporción total de ácidos grasos saturados e insaturados, pero sí en la relación entre omega-6 y omega-3, que fue mayor en las muestras con suplemento de soja, con una mayor concentración de ácido esteárico. Por el contrario, el ácido oleico presentó mayor concentración los animales alimentados con guisantes. También observaron diferencias en los contenidos de C14:0, C16:0, C16:1-9c, C18:0 y C18:1-9c.

En estudios en corderos, la inclusión de guisante no afectó a los contenidos de C14:0, C16:0, C18:0 y C20:4n-6 en el músculo LT. En cambio, tendió a afectar al contenido de C18:2 n-6 (Turner y cols. 2012).

### ***1.3.5 Oxidación lipídica***

La vida útil prolongada es una cualidad muy apreciada por consumidores, comerciantes y distribuidores. Uno de los responsables de su disminución es la oxidación lipídica (Resconi y cols., 2007), proceso en el que los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular formando hidroperóxidos. Esto es seguido de una serie de reacciones que provocan la degradación de los lípidos y el desarrollo de la rancidez oxidativa (Sánchez y cols., 2008).

La vitamina E depositada en el músculo, a partir de su presencia natural en los forrajes o por su adición a través de los piensos, limita la oxidación lipídica. Los antioxidantes presentes en los pastos (Descalzo y cols., 2005) y en los ensilados parecen ser

## *Introducción*

suficientes para mantener una vida útil aceptable. También juegan un papel importante los ácidos grasos presentes en la carne, ya que son más oxidables cuanto mayor es su grado de insaturación (Resconi y cols., 2007).

Según Faustman y cols. (1989), existe una correlación positiva entre la formación de metamioglobina y la acumulación de Sustancias Reactivas al Acido Tiobarbitúrico (TBARS) que se forman como subproducto de la degradación de las grasas. También Kanner y cols. (1987) observaron la relación entre la decoloración de la carne y el inicio del desarrollo de las reacciones de oxidación lipídica. Por último, Resconi y cols. (2007) comprobaron que cuanto mayor era el grado de insaturación de los ácidos grasos de la carne, mayor era la oxidación que se producía.

En el caso de la incorporación de guisante en la dieta, podría modificar la cantidad de ácidos grasos insaturados y afectar a la oxidación lipídica de la carne. Sin embargo, hasta el momento no hay estudios en esta materia en terneros.

## **2 OBJETIVOS**

El objetivo principal de este trabajo es el estudio del efecto de la tasa de inclusión de guisante (0, 15, 30 y 45%) como sustitutivo proteico a la soja en la dieta de cebo de terneros de la raza Parda de Montaña sobre la calidad instrumental de su carne.

Los objetivos parciales son:

- Evaluar el efecto de la tasa de inclusión de guisante en los piensos sobre su composición química y su perfil de ácidos grasos.
- Evaluar el efecto de la tasa de inclusión de guisante en la calidad de la carne, en concreto sobre el color y la dureza del músculo, así como su composición química, perfil de ácidos grasos y oxidación lipídica.



Figura 3. Terneros experimentales de raza Parda de Montaña.

### 3 MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se ha realizado en las instalaciones del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). El cebo de los terneros se realizó en la Finca experimental de la Garcipollera, situada en Bescós de la Garcipollera (Jaca) (42°37'N, 0°30'O) y los análisis de los piensos y la carne en el laboratorio de valoración nutritiva en Montañana (Zaragoza) (41°3'N, 0°47'O).

#### 3.1 Animales

En el ensayo se han empleado 32 terneros de raza Parda de Montaña nacidos en otoño y destetados con un peso vivo de 210 ( $\pm 24,3$ ) kg y edad de 152 ( $\pm 17,6$ ) días. Los terneros se distribuyeron aleatoriamente en cuatro tratamientos con diferente tasa de inclusión de guisante en el pienso: 0% (control; 0%G), 15% (15%G), 30% (30%G), 45% (45%G). Los piensos se formularon para ser iso-energéticos (11,6 MJ/kg materia fresca (MF)) e iso-proteicos (13% sobre MF).

Los ingredientes de los piensos están detallados en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes de los piensos de cebo según la inclusión de guisante (G).

Ingrediente	0G%	15%G	30%G	45%G
Maíz	51,60	40,60	29,59	27,04
Cebada	20,00	20,00	20,00	20,00
Gluten feed maíz 19%	15,00	15,00	15,00	4,41
Harina de soja 47	9,71	5,49	1,28	0,00
Guisantes	0,00	15,00	30,00	45,00
Carbonato cálcico	1,33	1,33	1,33	1,35
Aceite de palma	0,76	0,98	1,20	0,61
Bicarbonato sódico	0,60	0,60	0,60	0,60
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50
Corrector terneros 0,2%	0,20	0,20	0,20	0,20
Oxido magnesio	0,20	0,20	0,20	0,20
Maxi mill	0,05	0,05	0,05	0,05
Moldnil dry	0,05	0,05	0,05	0,05

Los terneros recibieron pienso y paja a voluntad hasta su sacrificio con un peso promedio de 508 ( $\pm 5,6$ ) kg y edad 360 ( $\pm 32$ ) días. El sacrificio se llevó a cabo en un matadero comercial (Carnes Monfort S.L, Huesca) según las prácticas comerciales habituales.

### 3.2 Muestreos

Mensualmente se tomaron muestras de pienso de los terneros para determinar su composición química. Las muestras se congelaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

Tras el sacrificio, las canales se mantuvieron en refrigeración hasta que se extrajo el músculo *longissimus thoracis* (LT) del costillar y el músculo *semitendinosus* (ST) de la canal izquierda de cada animal.

- Se cortaron los filetes del músculo LT con al menos 3,5 cm de espesor para la determinación del color del músculo. Las muestras se colocaron aleatoriamente en bandejas de poliestireno extendido cubiertas con film permeable al oxígeno y se mantuvieron a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  en oscuridad durante 1, 4, 6, 8 y 11 días. Tras la medición del color se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  para determinar la oxidación lipídica.
- Se cortaron 3 filetes de cada músculo (LT y ST) de 3,5 cm de espesor y se envasaron al vacío. Los filetes se mantuvieron en refrigeración a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  en oscuridad hasta su maduración a 3, 8 ó 15 días. Posteriormente se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis de dureza.
- Se cortó un filete de cada músculo (LT y ST) de 3 cm de espesor para determinar la composición química y perfil de ácidos grasos. Los filetes se envasaron al vacío y se mantuvieron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su liofilización.

Para el análisis de las muestras de pienso y carne del músculo LT y ST destinadas a la determinación de la composición química se realizó un triturado en picadora y después se molieron en un molino ultracentrífugo (Retsch ZM200) para la molienda a 0,2 mm para la determinación de proteína bruta (PB) y 0,5 mm para el resto de los análisis. Las muestras se mantuvieron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. En el caso de la carne, antes del triturado se procedió a la liofilización en un liofilizador (Virtis Génesis Wizard 2.0) mediante los siguientes pasos:

1º) Liofilizador a -20 °C y condensador a -80 °C durante 24 horas con un vacío a 110 milímetros de presión.

2º) Secado → Liofilizador a 0 °C y condensador a -80 °C durante 8 horas.

3º) Secado secundario (1ª fase) → Liofilizador a 10 °C y condensador a -80 °C durante 6 horas.

4º) Secado secundario (2ª fase) → Liofilizador a 20 °C y condensador a -80 °C durante 18 horas.

### **3.3 Análisis realizados**

#### **3.3.1 *Composición química y ácidos grasos de los piensos***

La determinación de la materia seca del alimento y el contenido en cenizas se realizó según los métodos AOAC (A.O.A.C., 1999). La materia seca de los piensos se obtuvo tras mantener en estufa las muestras hasta llegar a peso constante.

El contenido en fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y la lignina ácido detergente (LAD) se determinaron siguiendo el procedimiento descrito por Van Soest y cols. (1991), utilizando un analizador de fibra Ankom 200/220 (Ankom, NY. EE.UU.). Para el análisis de FND se empleó una amilasa resistente al calor. El contenido en LAD se analizó con los residuos de FAD por solubilización de la celulosa con ácido sulfúrico. Todas las fracciones se corrigieron por su contenido en cenizas.

El contenido en proteína bruta (Nitrógeno x 6,25) se determinó mediante el procedimiento de combustión Dumas (A.O.A.C., 1999), utilizando un analizador de nitrógeno (Modelo NA 2100, CE instrumentos, Thermoquest SA, Barcelona, España). El contenido en grasa bruta se determinó con el procedimiento A.O.C.S Am 5-04 en un Equipo Ankom XT10.

El análisis de ácidos grasos se realizó basándose en la metodología de Sukhija y Palmquist (1988). En primer lugar, se pesó 0,4-0,8 gramos de carne liofilizada en un tubo de polipropileno de 15 ml y se realizó una doble metilación con una disolución de 0,5M de NaOH/CH<sub>3</sub>OH y posteriormente con cloruro de acetilo/CH<sub>3</sub>OH (1/10 v/v) recuperando finalmente los ácidos grasos metilados en heptano. Posteriormente se centrifugó a 10 °C durante 5 min a 3500 rpm. Después, se extrajo la parte superior (heptano), se añadió en un tubo al que se le había adicionado Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se



volvió a centrifugar en las mismas condiciones. Finalmente, se extrajo 1 ml del sobrenadante y se vertió en un vial para cromatografía de gases.

La determinación de los ácidos grasos se realizó mediante el cromatógrafo de gases Bruker 436 Scion con un detector FID (Detector de Ionización de Llama) con una columna capilar BR-2560 (Bruker) 200 m x 0,25 mm D.I. x 0,20 µm de grosor de película. En el equipo se inyectó 1 µl de cada muestra para su análisis.

La identificación de los picos se realizó partiendo de un patrón ya conocido, que se ajustó a las condiciones cromatografías específicas, a partir de comparaciones de tiempo de retención de una muestra de carne con estándares de referencia certificados (GCB538 y GC463, Nu-Chek Prep, Inc.).

De cada muestra se obtuvo un cromatograma del análisis de ácidos grasos (expresados como AG) de la muestra de carne. A partir del cromatograma se pudo calcular para cada AG, el porcentaje sobre el total de AG corrigiendo el área del ácido graso, según el tiempo retención de cada AG, por un factor teórico de corrección (UNE-EN ISO, 2016) y los mg/g muestra liofilizada, mediante la adición de un estándar interno (C23:0) de concentración conocida.

### **3.3.2 Color de la carne**

El color instrumental del músculo LT se midió utilizando un espectrofotocolorímetro Minolta CM-2006d (Konica Minolta Holdings, Inc., Osaka, Japón) con un diámetro de área de 8 mm, incluyendo un componente especular y un 0% de iluminación UV, iluminante estándar D65, que simula la luz del día (temperatura de color 6504 K), un ángulo de observador 10° y calibración con la placa de blanco. Se registró el espectro de reflectancia en porcentaje desde los 360 nm a 740 nm cada 10 nm. Se registraron la claridad o luminosidad ( $L^*$ ), el índice de rojo ( $a^*$ ) y el índice de amarillo ( $b^*$ ), a partir de los cuales se calcularon la saturación o croma ( $C^*$ ) según la fórmula  $C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  y el tono ( $h_{ab}$ ) con la fórmula  $h_{ab} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \times 57,29$  (Wyszecki y Styles, 1982).

### **3.3.3 Dureza de la carne**

El análisis de dureza se realizó mediante el método de Warner-Bratzler en la máquina de ensayo universal Instron con el software Bluehill3 y la célula Warner-Bratzler con forma de “V” invertida basándose en la metodología de Ripoll y cols. (2013a).

Para el análisis, se descongelaron las muestras de carne en agua tibia y se introdujeron en un baño termostático con agua a una temperatura de 75 °C. La cocción finalizó cuando la temperatura en el centro de la carne alcanzó 70 °C. La temperatura en el centro de las muestras se controló con sondas termopar. Una vez finalizada la cocción, las muestras se extrajeron del baño termostático y se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta el día siguiente.

Tras 24 horas, se calibró el aparato Instron, y las muestras cocidas se sacaron del envase para cortarlas en paralelepípedos de 1 cm<sup>2</sup> de sección y aproximadamente 3 cm de largo en la dirección de las fibras. La altura de las muestras fue de 8-12 mm y la anchura en torno a los 10 mm. Tras el corte de las muestras, se fueron colocando las tiras de carne con pinzas en la célula donde se procedió al corte producido por la célula Warner-Bratzler. Para cada muestra se realizaron 10-12 medidas de las que se obtuvo la media. Se registró el esfuerzo máximo realizado en cada muestra con distintos días de maduración. Los resultados se expresaron en Newtons (N)/cm<sup>2</sup>.



Figura 4. Muestras de carne para el análisis de dureza.

#### **3.3.4 Composición química y colesterol de la carne**

Las muestras de carne se pesaron en balanza analítica (Mettler Toledo XS204) antes y después de liofilizar para obtener el contenido en materia seca. El resto de los análisis de composición química de la carne son iguales a los realizados en los piensos.

Para la determinación de la cantidad de colesterol se utilizaron las muestras de carne del músculo LT siguiendo la metodología propuesta por Bertolín y cols. (2018).

Para el análisis se pesaron 0,2 g de carne en tubo de polipropileno para centrífuga de 15 ml, tras esto, se añadieron 0,2 g de ácido ascórbico (antioxidante) y 3 ml de la disolución saponificante (10% p/v KOH, 50:50 v:v EtOH:H<sub>2</sub>O). Seguidamente se dejó en atmosfera inerte de nitrógeno y después se saponificó durante 20 horas en un baño de agua en agitación (100 rpm) a temperatura ambiente y protegido de la luz. Pasadas las 20 horas, se realizaron dos extracciones con 5 ml de hexano:acetato de etilo 9:1 v:v (5 µg/ml BHT). Al finalizar, se volvió a repetir el procedimiento desde la adición de hexano:acetato de etilo. Por último, se evaporó en el rotavapor de vacío durante 35 min a 40 °C, se re-suspendió en 1 ml de fase móvil (ACN:CH<sub>3</sub>OH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 75:15:10), se filtró (filtro 13 mm x 0,20 µm de PTFE) y se conservó la muestra en un vial ámbar de 2 ml de HPLC.

Con la muestra preparada se procedió a su análisis en el cromatógrafo de HPLC (Waters Acquity UPLC CLASS) equipado con un detector de absorbancia (PDA, eλ Detector) y otro de fluorescencia (Waters 2475 Multi λ Fluorescence Detector), y una columna Acquity UPLC HSS T3 2,1 mm x 150 mm x 1,8 µm, ajustando la temperatura del automuestreador a 25 °C y la de la columna a 35 °C. Se usó como fase móvil una mezcla de ACN:CH<sub>3</sub>OH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 75:15:10 v:v:v con un flujo de 0,3 ml/min. Se inyectaron 5 µl de muestra, monitorizando a una longitud de onda de 220 nm. El colesterol se identificó por comparación del tiempo de retención y análisis espectral con el estándar puro.

Para la cuantificación se realizó una recta de calibrado de 5 puntos con concentraciones que oscilaron entre los 0,5 y los 2,5 mg/ml de colesterol disueltos en la fase móvil (ACN:CH<sub>3</sub>OH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 75:15:10).

### **3.3.5 Ácidos grasos de la carne**

La cuantificación de los ácidos grasos de la carne se realizó basándose en el procedimiento de Lee y cols. (2012) donde se realizó la doble metilación, y se determinó mediante el mismo cromatógrafo de gases con detector FID.

La identificación de los picos de los ácidos grasos se realizó de la misma manera que la de los piensos también. Una vez identificados los AG de la carne de manera individual, se procedió a calcular la suma total de AG saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y polinsaturados (AGPI). Se calcularon los ratios AGPI:AGS y los AGPI n-6:n-3; para este último se sumaron previamente los AGPI n-6 (C18:2 n-6 + CLA + C20:4 n-6) y AGPI n-3 (C20:5 n-3 + C22:5 n-3 + C22:6 n-3). Por último, se calculó el sumatorio de isómeros de Ácidos Linoleico Conjugado (CLA; por sus siglas en inglés).

### **3.3.6 Oxidación lipídica**

Para la determinación del grado de oxidación se ha utilizado el método del tiobarbitúrico basándose en el estudio de Ripoll y cols. (2013b). El análisis se realizó para las muestras de carne del músculo LT que habían sido expuestas durante 1, 4, 6, 8 y 11 días al oxígeno.

Para la realización del análisis, se comenzó preparando una solución de tricloroacético (TCA) con una concentración de 100 g de TCA/litro de agua destilada que se disolvió en agitación y en el baño de ultrasonidos. Posteriormente, se preparó otra solución de ácido tiobarbitúrico (TBA) necesaria para las muestras y curva patrón, y finalmente, en un matraz de 100 ml se preparó una solución de tetrametoxipropano (TMP).

En cuanto a la preparación de las muestras que estaban congeladas a -20 °C, se descongelaron con agua tibia, se separó el tejido conectivo, se picaron en la picadora y se añadió 20 ml de TCA a cada muestra en tubos falcon para continuar picando en el ultraturrax a 11.000 rpm.

Posteriormente, se centrifugó durante 30 min a 4 °C y 4000 rpm. A continuación, se procedió al filtrado de las muestras centrifugadas con papel de filtro y se pasaron 2 ml de la muestra filtrada y otros 2 ml de TBA a tubos de ensayo (por duplicado). Además, se prepararon dos blancos con 2 ml de agua y otros 2 ml de TBA. Por último, se

homogeneizaron las muestras en el rota-tubos y se llevaron a incubar al baño termostático durante 20 min a 97 °C.

Finalmente, se dejaron atemperar y se realizó la lectura de las muestras en un espectrofotómetro con cubetas de plástico a una longitud de onda de 532 nm.

La curva patrón se preparó añadiendo 5 ml de TBA, 5 ml de agua destilada y concentraciones crecientes de TMP (10, 20, 30, 40, 60, 80 y 100 µl) a tubos de ensayo que se llevaron al baño termostático durante 35 min a 100 °C. Tras esto, se atemperaron en agua fría y se midió la recta en el espectrofotómetro.

Los resultados de las absorbancias se expresaron en mg de malonaldehído (MDA)/kg multiplicando el valor de la absorbancia por 2,96 y dividiendo por la pendiente de la recta patrón dividida por 10.000.

### **3.4 Estadística**

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS v 9.1 (SAS Institute Inc., NC, Cary, EE.UU.).

En el caso de los piensos, se muestran únicamente las medias y la desviación estándar de los distintos parámetros de composición química según la tasa de inclusión de guisante en los mismos.

Los análisis estadísticos de los distintos parámetros estudiados en la carne se analizaron para cada músculo por separado.

El color, el esfuerzo y la oxidación del músculo se analizaron mediante modelos mixtos (proc mixed) con medidas repetidas basadas en los ajustes de los grados de libertad de Kenward-Roger. Se consideraron como efectos fijos la tasa de inclusión de guisante en el pienso, el tiempo de exposición al oxígeno/maduración y su interacción. Se consideró como efecto aleatorio el ternero. Se eligió la matriz de varianza covarianza para el ajuste del error que presentó menor valor de Criterio de Información Akaike.

Los parámetros de la composición química (materia seca, proteína bruta y grasa bruta), colesterol y la composición de ácidos grasos del músculo se analizaron con un GLM con la inclusión de guisante como efecto fijo.

Se estimaron las medias de mínimos cuadrados de los tratamientos y se obtuvieron comparaciones de las medias mediante la opción de probabilidad de diferencia (PDIFF).

### *Material y métodos*

El nivel de significación elegido fue de  $p < 0,05$  y se consideraron como tendencias cuando  $0,05 \leq P < 0,10$ .

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 PIENSO

#### 4.1.1 *Composición química*

La composición química de los cuatro piensos utilizados en este estudio se presenta en la Tabla 2. El contenido de materia seca y cenizas fue similar en los cuatro tipos de piensos con un valor promedio de 89 y 5,6 g/100 g MS, respectivamente.

Tabla 2. Composición química (media  $\pm$  desviación estándar) de los piensos según la tasa de inclusión de guisante (G).

	0%G	15%G	30%G	45%G
Materia seca (MS), g/100 g	89,2 $\pm$ 3,11	89,2 $\pm$ 3,03	89,0 $\pm$ 3,06	88,9 $\pm$ 3,3
Cenizas, g/100 g MS	5,67 $\pm$ 0,24	5,63 $\pm$ 0,17	5,94 $\pm$ 0,24	5,49 $\pm$ 0,28
FND <sup>1</sup> , g/100 g MS	18,76 $\pm$ 0,59	18,73 $\pm$ 0,95	19,27 $\pm$ 1,38	17,87 $\pm$ 1,78
FAD <sup>2</sup> , g/100 g MS	7,21 $\pm$ 0,69	7,93 $\pm$ 0,77	8,41 $\pm$ 0,59	8,53 $\pm$ 1,2
LAD <sup>3</sup> , g/100 g MS	0,94 $\pm$ 0,27	0,89 $\pm$ 0,18	0,92 $\pm$ 0,08	0,70 $\pm$ 0,09
Proteína bruta, g/100 g MS	14,67 $\pm$ 0,67	15,25 $\pm$ 0,52	15,51 $\pm$ 1	15,92 $\pm$ 1,14
Grasa bruta, g/100 g MS	3,65 $\pm$ 0,83	3,67 $\pm$ 0,9	4,08 $\pm$ 0,81	3,96 $\pm$ 0,55

<sup>1</sup> fibra neutro detergente; <sup>2</sup> fibra ácido detergente; <sup>3</sup> lignina ácido detergente

El contenido de FND fue semejante entre los piensos 0%G y 15%G presentando unos niveles similares a los analizados por Greenwell y cols. (2017), en torno al 18%. El pienso 30%G presentó un contenido en FND ligeramente superior mientras que el pienso 45%G presentó un contenido algo inferior a los piensos 0%G y 15%G. El contenido de FAD se incrementó con la tasa de inclusión del guisante, ya que piensos con una mayor concentración de proteína tienden a tener un mayor porcentaje de fibra (FEDNA, 2017). El contenido de lignina fue similar entre piensos, aunque su valor fue menor en el pienso 45%G.

El contenido de proteína bruta tuvo la misma tendencia que el de FAD, presentando el menor contenido en el pienso 0%G y aumentando hasta el pienso 45%G, el de mayor proporción de guisante. A pesar de que los piensos se formularon para ser iso-proteicos, las distintas variedades de guisante presentan un contenido proteico variable (FEDNA,

2017), siendo el utilizado en el presente estudio del 19% (datos no publicados). El contenido de grasa bruta en los piensos presentó diferencias entre las muestras 0%G y 15%G, con un valor cercano al 3,65%, y los piensos 30%G y 45%G que tuvieron un valor cercano al 4%.

#### 4.1.2 Composición de ácidos grasos

La composición de ácidos grasos de los piensos según la tasa de inclusión de guisante en el pienso se muestra en la Tabla 3. Los ácidos grasos mayoritarios en las muestras de los piensos fueron el ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1-9c), linoleico (C18:2-n6) y linolénico (C18:3-n3).

Tabla 3. Composición de ácidos grasos<sup>1</sup> (media  $\pm$  desviación estándar) de los piensos según la tasa de inclusión de guisante (G).

	0%G	15%G	30%G	45%G
C10:0	0,40 $\pm$ 0,08	0,40 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,07	0,35 $\pm$ 0,07
C12:0	0,36 $\pm$ 0,25	0,30 $\pm$ 0,12	0,62 $\pm$ 0,72	0,21 $\pm$ 0,16
C14:0	0,55 $\pm$ 0,13	0,57 $\pm$ 0,10	0,70 $\pm$ 0,23	0,50 $\pm$ 0,09
C16:0	25,77 $\pm$ 1,02	25,88 $\pm$ 0,28	26,89 $\pm$ 0,89	24,31 $\pm$ 2,07
C16:1-9c	0,16 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,02
C18:0	7,85 $\pm$ 0,37	8,08 $\pm$ 0,48	8,01 $\pm$ 0,67	8,42 $\pm$ 0,23
C18:1-9c	23,62 $\pm$ 0,86	23,36 $\pm$ 0,17	24,32 $\pm$ 0,85	23,92 $\pm$ 1,46
C18:1-11c	0,75 $\pm$ 0,08	0,73 $\pm$ 0,11	0,74 $\pm$ 0,06	0,63 $\pm$ 0,06
C18:2-n6	37,80 $\pm$ 1,69	37,49 $\pm$ 0,47	34,77 $\pm$ 0,68	37,55 $\pm$ 0,68
C20:0	0,24 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,03	0,3 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,03
C20:1	0,2 $\pm$ 0,02	0,2 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,02
C18:3n-3	2,01 $\pm$ 0,3	2,23 $\pm$ 0,22	2,49 $\pm$ 0,55	3,06 $\pm$ 0,57

<sup>1</sup> g/100g identificados

El pienso 30%G y 45% presentaron el mayor y menor contenido de ácido palmítico (C16:0) respectivamente. Los piensos presentaron similares contenidos de ácido esteárico (C18:0), oleico (C18:1-9c) y linoleico (C18:2-n6). Por último, cabe destacar el incremento en el contenido del ácido linolénico (C18:3-n3) con la tasa de inclusión de guisante. Esto se debe al mayor grado de insaturación de las grasas del guisante, que



presenta un 11% de ácido linolénico (FEDNA, 2017). Estos resultados fueron bastante parejos a los obtenidos por Corazzin y cols. (2017) para piensos con 23 ó 36% de guisante, en los que la concentración de linolénico variaba entre el 2,4 y 3,5% del total. A su vez, las concentraciones de ácido oleico también resultaron semejantes, estando entre un 23,3% y un 26,7% en ambos estudios. En cambio, en el presente estudio las concentraciones de ácido esteárico fueron superiores y las de ácido linoleico inferiores en comparación con el estudio de Corazzin y cols. (2017).

## **4.2 CARNE**

### **4.2.1 *Color del músculo longissimus thoracis***

Los datos referentes a la evolución de la luminosidad ( $L^*$ ) y tono ( $h_{ab}$ ) del músculo *longissimus thoracis* a lo largo del periodo de exposición al oxígeno se presentan en la Figura 5.

La luminosidad y  $h_{ab}$  se vieron únicamente afectados por los días de exposición al oxígeno ( $P<0,001$ ). La luminosidad ( $L^*$ ) siguió una tendencia bastante estable salvo en el intervalo entre los 6 y 8 días, en que sufrió una disminución, pero manteniendo valores superiores a 35 y una estabilidad mientras la carne se oxidaba, como suele ser habitual (Albertí y cols., 2016; Ripoll y cols., 2012). Por otro lado, el tono ( $h_{ab}$ ) aumentó ligeramente conforme avanzaban los días en los que está en contacto con el oxígeno, aunque manteniendo la estabilidad a partir del cuarto día. En los primeros días se produjo el mayor aumento debido al contacto con el oxígeno, que produce un tono rojizo intenso. En cambio, a partir del día 11 empezó a disminuir el tono (aunque no significativamente), pudiendo comenzar el “pardeamiento” de la carne, con un tono más apagado (Ripoll y cols., 2012).

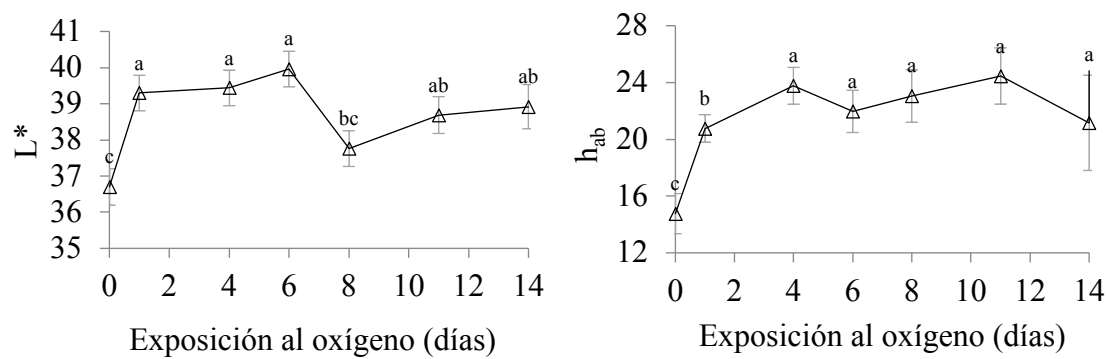


Figura 5. Evolución de la luminosidad ( $L^*$ ) y el tono ( $h_{ab}$ ) del músculo *longissimus thoracis* durante la exposición al oxígeno.

En un parámetro, medias con diferente letra difieren ( $P < 0,05$ ).

El índice de rojo,  $b^*$  y  $C^*_{ab}$  se vieron afectados por la interacción entre la inclusión de guisante en el pienso y la exposición al oxígeno ( $P < 0,05$ ) (Figura 6). En general,  $a^*$  disminuyó con el tiempo de exposición, salvo los primeros días de contacto con el oxígeno en los que aumentó, lo que produjo un tono rojizo intenso (Ripoll y cols., 2012). Las diferencias que se han producido según la tasa de inclusión de guisante ocurren en los días 0 y 14 de exposición al oxígeno, debidas principalmente a la variación observada en el tratamiento 15%G. La carne de los terneros de este tratamiento tiene un  $a^*$  mayor al corte que la del 0%G y 45%G ( $P < 0,05$ ), pero a los 14 días es menor que en los tratamientos 0%G y 45%G ( $P < 0,05$ ). El tratamiento 30%G presentó valores intermedios.

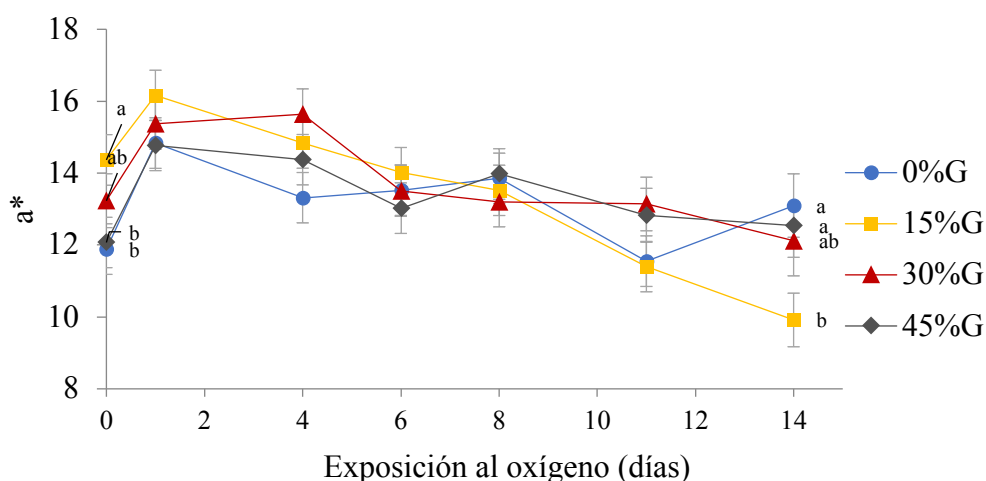


Figura 6. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros sobre el índice de rojo ( $a^*$ ) del músculo *longissimus thoracis*.

## Resultados y discusión

En un tiempo de exposición al oxígeno, letras distintas indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ).

Tal y como se ha explicado anteriormente,  $b^*$  se vio afectado por la interacción entre la inclusión de guisante en el pienso y los días de exposición ( $P<0,05$ ). La tasa de inclusión de guisante afectó a  $b^*$  únicamente el día 0 ( $P<0,01$ ), al descender  $b^*$  con la tasa de inclusión de guisante (Figura 7). En cuanto a la evolución con la exposición al oxígeno,  $b^*$  se incrementó del día 0 al día 1 de exposición ( $P<0,05$ ) manteniéndose sin variaciones significativas hasta el día 14 de exposición, exceptuando una bajada en  $b^*$  en la carne de los terneros 45%G entre el día 11 y 14 ( $P<0,05$ ).

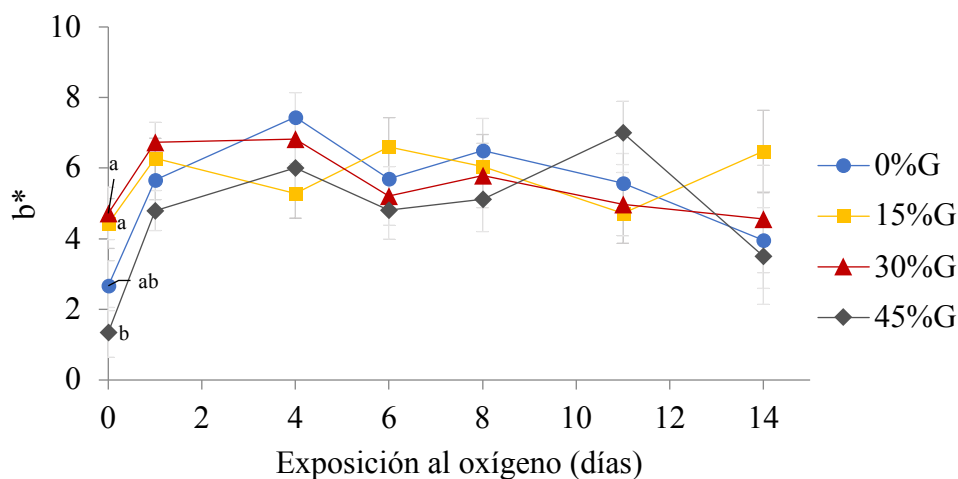


Figura 7. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros sobre el índice de amarillo ( $b^*$ ) del músculo *longissimus thoracis*.

En un tiempo de exposición al oxígeno, letras distintas indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ).

Al igual que  $a^*$  y  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$  se vio afectado por la interacción entre la tasa de inclusión de guisante en el pienso y el tiempo de exposición al oxígeno ( $P<0,05$ ). La tasa de inclusión de guisante afectó a  $C^*_{ab}$  en el día 0 ( $P<0,01$ ) y día 11 ( $P<0,10$ ). En el día 0, se han producido debido a las diferencias de los terneros 0%G y 45%G con los terneros 15%G que tuvieron un mayor valor ( $P<0,01$ ), donde los terneros 30%G presentaron valores intermedios. En cambio, en el día 11, solo ha habido diferencias entre los terneros 15%G y 45%G, siendo este último el de mayor valor ( $P<0,05$ ) (Figura 8).

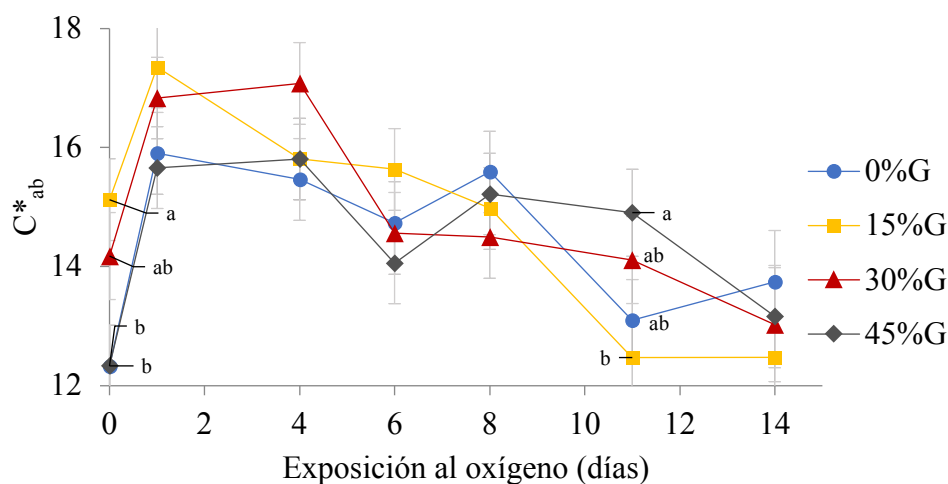


Figura 8. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de terneros sobre el índice  $C^*_{ab}$  del músculo *longissimus thoracis*.

En un tiempo de exposición al oxígeno, letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

En el trabajo de Corrazzin y cols. (2017) la sustitución de soja por guisante en el suplemento durante el crecimiento (36%) y cebo (23%) de terneros produjo una tendencia en  $L^*$  ( $p < 0,10$ ) pero no afectó ni al  $a^*$  ni  $b^*$  al corte. La ausencia de efecto en dicho estudio puede atribuirse a la menor inclusión de guisante en la dieta (heno más pienso), que osciló entre el 8 y 10%.

Dado que no ha sido posible encontrar más estudios que evalúen el efecto de la inclusión de guisante en la dieta de terneros sobre el color de la carne, se han comparado los resultados con estudios realizados en corderos. En ellos, el efecto de la inclusión de guisante en el pienso ha sido evaluado en distintas proporciones, con resultados no concluyentes. La inclusión de guisante (30%) en el pienso de cebo de corderos afectó a la saturación de la carne ( $P < 0,01$ ) y creó una tendencia en los índices rojo y amarillo ( $P < 0,10$ ) pero en ningún caso hubo diferencias significativas (Oliver, 2017), como ocurre en el presente estudio. El color medido a las 2 horas del corte no se vio afectado por la inclusión de guisante en distintas proporciones: 19-39% (Lanza y cols., 2003) y 40% (Lanza y cols., 2011). Sin embargo, la inclusión de 40% de guisante incrementó  $a^*$  sin afectar a  $L^*$  y  $b^*$  (Colonna y cols., 2014).

#### 4.2.2 Terneza de los músculos *longissimus thoracis* y *semitendinosus*

El esfuerzo máximo en el músculo LT tendió a verse influido por la tasa de inclusión de guisante en el pienso ( $P<0,10$ ) y se vio afectado por el tiempo de maduración de la carne ( $P<0,001$ ) (Figura 9).

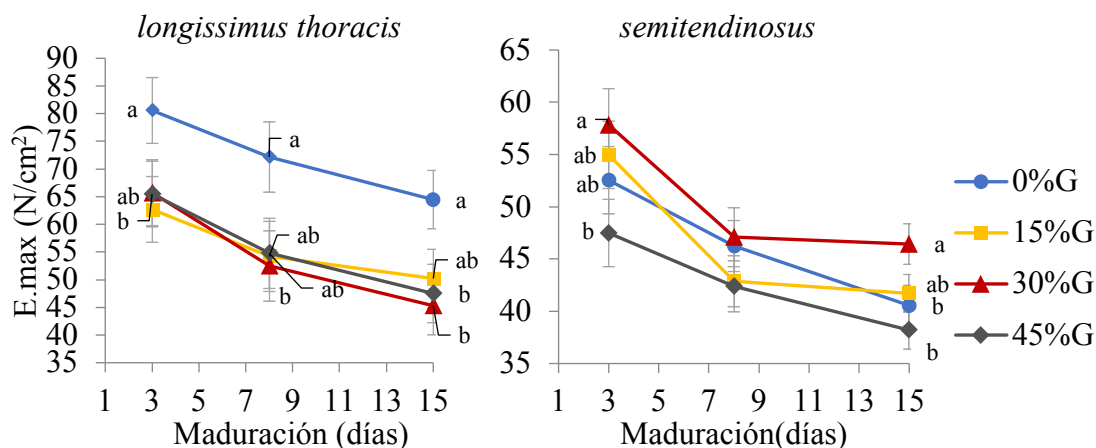


Figura 9. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso de cebo de los terneros sobre el esfuerzo máximo (E.max) en el músculo *longissimus thoracis* (LT) y *semitendinosus* (ST) a lo largo de la maduración.

En un tiempo de maduración, letras distintas indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ).

A lo largo de toda la maduración, el músculo LT de los terneros 0%G presentó un mayor esfuerzo máximo que el de los terneros 30%G ( $P<0,05$ ), y tendió a ser mayor que el de los terneros 15%G y 45%G ( $P<0,10$ ), siendo mayor en estos últimos a los 15 días ( $P<0,05$ ). Al igual que en el presente estudio, en el trabajo de Jenkins y cols. (2011) los terneros con un 0% de inclusión de guisante presentaron el mayor esfuerzo y los terneros con 30% de guisante en el pienso el menor. Otros estudios de Maddock y cols. (2013) y Hinkle y cols. (2010) evidenciaron resultados similares, demostrando una mayor terneza en los terneros alimentados con una mayor proporción de guisante.

En cuanto al efecto de la maduración en el músculo LT, el esfuerzo máximo disminuyó entre el día 3 y 8 ( $P<0,001$ ) y entre el día 8 y 15 de maduración ( $P<0,01$ ) debido a la proteólisis que tiene lugar durante la maduración, que provoca una mayor terneza como ocurre en el estudio de Revilla y Vivar-Quintana (2006). Este efecto se había

comprobado en el músculo LT de terneros de raza Parda de Montaña alimentados con pienso (Blanco y cols., 2010).

El esfuerzo en el músculo ST se vio afectado por la tasa de inclusión de guisante en el pienso ( $P<0,05$ ) y por la maduración ( $P<0,01$ ). De manera global, los terneros 30%G presentaron un mayor esfuerzo máximo que los terneros 45%G ( $P<0,01$ ). Cabe destacar que se evidenciaron menores diferencias entre tratamientos que en el músculo LT y en sentido diferente. Esto puede deberse a que los dos músculos están conformados por diferentes frecuencias, tipos y áreas de las fibras, lo que hace que se comporten de manera diferente y tengan características distintas aun siendo músculos del mismo animal (Vestergaard y cols., 2000).

Respecto al tiempo de maduración, el esfuerzo máximo descendió entre los 3 y 8 días ( $P<0,001$ ) y entre los 8 y 15 días de maduración ( $P<0,05$ ) de manera similar a lo ocurrido en el músculo LT.

#### **4.2.3 Composición química de los músculos *longissimus* y *semitendinosus***

La materia seca, proteína bruta y colesterol no presentaron diferencias debidas a la tasa de inclusión de guisante en el pienso en ninguno de los dos músculos analizados (Tabla 4). La grasa bruta tampoco presentó diferencias con la tasa de inclusión de guisante en el pienso en el músculo LT pero sí en el ST ( $P<0,01$ ), con mayor contenido en los terneros 30%G, alimentados con el pienso que contenía mayor cantidad de grasa.

Al igual que en el resto de los parámetros evaluados existe poca bibliografía sobre el efecto de la inclusión de guisante en la composición química de la carne de vacuno. Corazzin y cols. (2017) encontraron una tendencia a que la inclusión de guisante incrementara el contenido en grasa de la carne. En ovino de carne, la inclusión de guisante en el pienso no afectó ni a la proteína bruta ni a la grasa bruta del músculo (Scerra y cols., 2011; Lanza y cols., 2011).

En estudios que evaluaron el veteado de la carne, medición visual de la grasa intramuscular del músculo LT, se observaron resultados variables según la inclusión de guisante en el pienso. Jenkins y cols. (2011) no encontraron efecto en el veteado, mientras que Lardy y cols. (2009) encontraron un incremento lineal del veteado con la inclusión de guisante en dietas basadas en cebada, pero no en dietas basadas en maíz.

Pesta y cols. (2012) encontraron un incremento de veteado con una inclusión del 20% de guisante en dietas basadas en maíz, pero no en dietas que además tenían 30% de bagazo.

Tabla 4. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (%G) en el pienso sobre la composición química y el colesterol en los músculos *longissimus thoracis* (LT) y *semitendinosus* (ST).

	0%G	15%G	30%G	45%G	e.e.m. <sup>1</sup>	P-valor
<b>LT</b>						
Composición química, g/100g						
Materia Seca (MS)	24,64	24,53	24,32	24,56	0,09	0,60
Grasa Bruta	1,39	1,10	1,32	1,37	0,09	0,61
Proteína Bruta	21,86	21,74	21,52	21,91	0,07	0,24
Colesterol, g/100 g	0,41	0,40	0,41	0,40	0,00	0,58
<b>ST</b>						
Composición química, g/100g						
Materia Seca	23,36	23,24	23,35	23,00	0,09	0,52
Grasa Bruta	0,66a	0,60a	0,72a	0,46b	0,02	0,01
Proteína Bruta	21,04	20,92	21,13	20,83	0,08	0,62
Colesterol, g/100 g	0,44	0,45	0,43	0,44	0,01	0,56

<sup>1</sup> error estándar de la media

En una fila, letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

#### 4.2.4 Ácidos grasos de los músculos *longissimus thoracis* y *semitendinosus*

En la Tabla 5 se presentan se presentan los ácidos grasos individuales mayoritarios en los músculos *longissimus* y *semitendinosus* en relación a la tasa de inclusión de guisante en el pienso y en la Tabla 6 se presentan los contenidos totales de ácidos grasos según su grado de saturación, así como diversos índices.

Los ácidos grasos mayoritarios en los músculos LT y ST de los terneros fueron el ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1-9c) y linoleico (C18:2-n6) (Tabla 5).

El contenido de esteárico (C18:0), oleico (C18:1-9c) y linoleico (C18:2n-6) fue similar entre los tratamientos de ambos músculos, salvo el ácido linoleico en el músculo ST que tendió a ser menor en los terneros 30%G ( $P < 0,10$ ). En el músculo LT, el contenido de ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3n-3) fue menor en el tratamiento 0%G ( $P < 0,01$ ) que en el

resto. Por último, en el músculo ST, cabe destacar el ácido palmítico (C16:0) que se ha encontrado en menor proporción en los tratamientos 15%G y 45%G respecto al resto ( $P<0,10$ ) y las diferencias en DMA-C16:0 debido a la menor concentración de los 0%G respecto a los demás tratamientos ( $P<0,05$ ).

Tabla 5. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) en el contenido de ácidos grasos en el músculo *longissimus thoracis* (LT) y en el *semitendinosus* (ST).

	0%G	15%G	30%G	45%G	E.e.m.	P-valor
<b>LT</b>						
C10:0	0,34	0,34	0,31	0,32	0,01	0,84
C14:0	1,38	1,47	1,53	1,54	0,07	0,83
DMA-C16:0	5,05	5,51	5,23	4,73	0,30	0,83
C16:0	22,71	22,26	22,78	22,01	0,30	0,77
C16:1 9c	1,24	1,14	1,33	1,30	0,07	0,77
DMA-C18:0	3,02	3,51	2,99	3,07	0,20	0,76
C18:0	19,15	19,33	18,96	19,38	0,23	0,91
C18:1 9c	19,47	16,91	20,34	19,87	0,75	0,39
C18:1 11c	1,87	1,86	2,19	1,99	0,05	0,08
C18:2n-6	12,63	13,35	10,40	12,01	0,58	0,34
C18:3n-3	0,28a	0,35b	0,35b	0,38b	0,01	0,01
C20:0	0,10	0,09	0,08	0,10	0,00	0,53
C20:4n-6	2,59	2,75	2,21	2,44	0,11	0,39
<b>ST</b>						
C10:0	0,38	0,41	0,37	0,41	0,01	0,52
C14:0	1,01	0,92	1,10	0,89	0,05	0,43
DMA <sup>1</sup> -C16:0	5,73a	6,75b	6,26b	6,65b	0,12	0,02
C16:0	20,24	18,78	20,55	19,25	0,25	0,07
C16:1 , 9c	1,06	0,85	1,15	0,89	0,05	0,20
DMA-C18:0	3,90	4,42	3,61	4,41	0,12	0,07
C18:0	17,63	17,91	17,19	17,76	0,12	0,21
C18:1-9c	15,92	13,63	16,92	14,12	0,56	0,17
C18:1-11c	1,89	1,92	2,16	1,97	0,06	0,37
C18:2-n-6	16,31	18,23	14,16	17,58	0,51	0,06
C18:3n-3	0,07	0,08	0,07	0,07	0,02	0,32
C20:0	0,10	0,09	0,09	0,10	0,00	0,10
C20:4-n6	4,28	4,67	3,92	4,66	0,13	0,18

<sup>1</sup>Dimetil Acetales

En una fila, letras distintas indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ).

Ácidos grasos mayoritarios (superan el 0,06%).



Al contrario que en el presente estudio, en el trabajo de Corrazzin y cols. (2017) la inclusión de guisante redujo los contenidos de C14:0, C16:0 y C18:2-n6. A su vez, los contenidos de C16:1-9c, C18:0 y C18:1-9 presentaron valores superiores en comparación con el presente estudio.

En estudios en corderos, la inclusión de guisante no afectó a los contenidos de C14:0, C16:0, C18:0 y C20:4n-6 en el músculo LT, si bien tendió a afectar al contenido de C18:2n-6 (Turner y cols. 2012). En el presente estudio afectó al contenido C18:2-n6 pero no en el músculo LT sino en el ST.

Los ácidos grasos saturados (AGS) fueron mayoritarios, seguidos de los monoinsaturados y poliinsaturados en ambos músculos (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto de la tasa de inclusión de guisante (G) en los contenidos totales de ácidos grasos saturados (AGS), mono-insaturados (AGMI), poli-insaturados (AGPI), linoleico conjugado (CLA) en los músculos *longissimus* (LT) y *semitendinosus* (ST).

	0%G	15%G	30%G	45%G	E.e.m.	P-valor
<b>LT</b>						
AGS	55,09	56,11	55,43	54,76	0,34	0,55
AGMI	27,33	25,36	29,70	28,47	0,90	0,39
AGPI total	17,59	18,53	14,87	16,78	0,74	0,36
AGPI n-6	16,16	17,05	13,35	15,29	0,71	0,32
AGPI n-3	0,85	0,95	0,94	0,94	0,04	0,74
n-6:n-3	19,38a	17,83a	14,24b	16,18ab	0,35	0,001
CLA	0,20	0,17	0,16	0,16	0,01	0,13
AGPI:AGS	0,32	0,33	0,27	0,31	0,01	0,31
<b>ST</b>						
AGS	52,13	52,46	52,5	52,58	0,22	0,89
AGMI	23,52	20,79	25,62	21,28	0,68	0,08
AGPI total	24,35	26,75	21,88	26,14	0,64	0,07
AGPI n-6	22,1ab	24,5a	19,24b	23,75a	0,62	0,04
AGPI n-3	1,6	1,63	1,93	1,79	0,06	0,28
n-6:n-3	14,36a	15,31a	10,21b	13,65a	0,5	0,01
CLA	0,19	0,18	0,18	0,16	0,01	0,49
AGPI:AGS	0,47	0,51	0,42	0,5	0,01	0,07

En una fila, letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Los AGS no se vieron afectados por las distintas proporciones de guisante en los piensos de los terneros. Los niveles de AGMI y AGPI no tuvieron diferencias significativas en los terneros salvo en el músculo ST, donde los terneros 30%G

tendieron a presentar niveles más bajos de AGPI y más altos de AGMI ( $P<0,10$ ) que el resto de tratamientos.

En cuanto a los omega-6 (AGPI n-6) y 3 (AGPI n-3), no presentaron diferencias salvo en el músculo ST, donde los terneros 30%G tuvieron unos niveles más bajos de omega-6 (AGPI n-6) ( $P<0,05$ ). Esto provocó mayores diferencias en la relación entre ambos (n-6:n-3), siendo menor en los 30%G ( $P<0,05$ ). En el músculo LT también se observaron diferencias en la relación de omega-6 y -3 debido, al igual que en el ST, al bajo nivel de los terneros 30%G ( $P<0,05$ ).

Al igual que en el presente estudio, los resultados en el músculo LT de AGS, AGMI y AGPI del estudio de Corrazzin y cols. (2017) no se vieron afectados por la inclusión de guisante. Del mismo modo, tanto los niveles de omega-6 como los de omega-3 no se vieron afectados por la inclusión de guisante, pero sí la relación de omega-6 y -3.

Al igual que en el presente estudio, Turner y cols. (2012) obtuvieron diferencias, aunque no significativas, en los porcentajes de omega-6 en corderos que habían sido alimentados con piensos con y sin guisante. En su caso los niveles más bajos se dieron en los corderos alimentados con guisantes, pero no encontraron diferencias en los niveles de AGS, AGMI y AGPI, lo que no conlleva a una pérdida de los efectos positivos que generan estos dos últimos para la salud humana (Mataix y Gil, 2004).

Continuando con los ácidos grasos conjugados (CLA), no se observó ninguna diferencia entre tratamientos (Tabla 5). Tampoco hubo diferencias en la relación entre los ácidos saturados y poliinsaturados (AGPI/AGS), salvo en el músculo ST donde los terneros 30%G presentan unos valores ligeramente más bajos ( $P<0,10$ ) debido a su menor porcentaje de AGPI.

#### **4.2.5 Oxidación lipídica del músculo *longissimus thoracis***

La oxidación lipídica del músculo LT se vio afectada por la interacción entre la tasa de inclusión de guisante en el pienso y la exposición al oxígeno ( $P<0,01$ ) (Figura 10). La oxidación aumentó con el tiempo de exposición, siendo similar para todos los tratamientos hasta al sexto día. Sin embargo, la carne de los terneros 15%G tuvo mayor oxidación que el resto en el octavo día de exposición ( $P<0,005$ ). Entre el día 8 y 11 de exposición, la oxidación lipídica únicamente se incrementó en el tratamiento 30%G

( $P<0,01$ ) por lo que la carne de los terneros 15%G presentó mayor oxidación que la de 0%G y 45%G, presentado el grupo 30%G valores intermedios en el undécimo día.

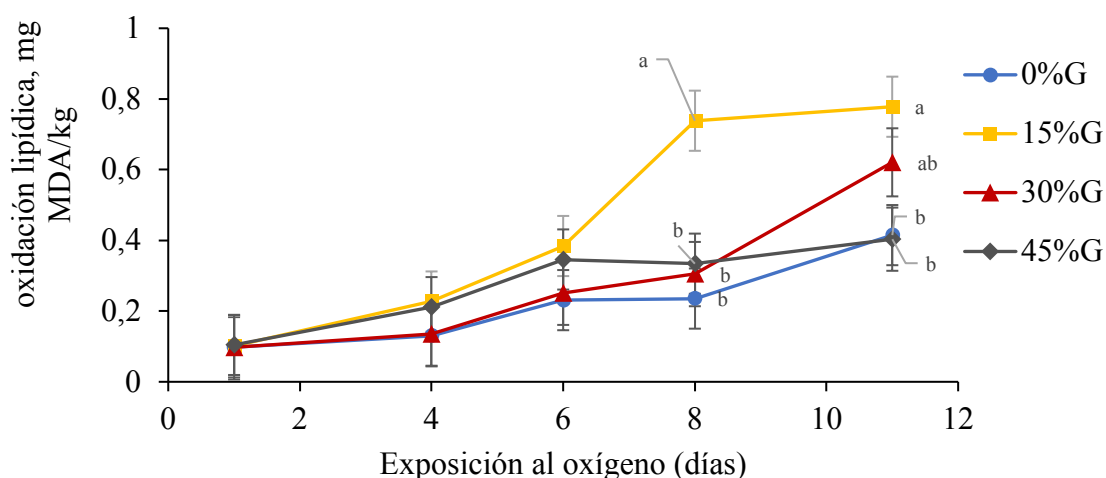


Figura 10. Efecto de la tasa de inclusión de guisante en el pienso sobre la oxidación lipídica según la exposición al oxígeno.

En un tiempo de exposición, letras distintas indican diferencias significativas ( $P<0,05$ ).

La evolución de la oxidación lipídica refleja los cambios observados anteriormente en el color del músculo. En este sentido, la carne de los terneros 15%G presentó el menor índice de rojo y mayor oxidación, seguida por el lote 30%G, mientras que la carne de los terneros 0%G y 45%G tuvo una menor oxidación y un mayor índice de rojo. Esto confirma la relación entre el índice de rojo y la oxidación descrita por Ripoll y cols. (2012). Además, en muestras de lomo de terneros Resconi y cols. (2007) asociaron una mayor oxidación a una menor concentración de  $\alpha$ -tocoferol y a un mayor grado de insaturación en los ácidos grasos. Esto podría explicar en parte la mayor oxidación observada en el tratamiento 15%G, que, aunque no tuvieron menor concentración de tocoferoles (datos no publicados), presentaron mayor concentración de AGPI respecto al resto (aunque las diferencias en el LT no fueron significativas).

## 5 CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede concluir que el guisante puede sustituir total o parcialmente a la soja en el pienso de los terneros debido a que no afecta, o en todo caso presenta un efecto ligeramente positivo, a las características de la carne evaluadas.

Del presente trabajo se pueden extraer las siguientes conclusiones parciales:

1. El color del músculo *longissimus thoracis* se vio afectado en escasa medida por la inclusión de guisante en el pienso. La luminosidad y el tono solamente se vieron afectados por el tiempo de exposición al oxígeno, mientras que el índice de rojo ( $a^*$ ), índice de amarillo ( $b^*$ ) y saturación ( $C^*_{ab}$ ) se vieron afectados por la interacción entre tasa de inclusión de guisante y el tiempo de exposición al oxígeno. La carne de los terneros 15%G tuvo mayor valor de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*_{ab}$  en el día 0 y menor  $C^*_{ab}$  a día 11 y  $a^*$  a día 14.
2. La inclusión de guisante en el pienso tuvo diferente efecto en el esfuerzo máximo en los dos músculos estudiados. En el músculo LT la terneza fue inferior en los terneros 0%G al resto de terneros, mientras que en el músculo ST fue inferior en el tratamiento 30%G frente al 45%G.
3. La composición química no se vio afectada por la inclusión de guisante en el pienso salvo el contenido de grasa bruta en el músculo ST, que fue inferior en los terneros 45%G que en el resto.
4. La inclusión de guisante en el pienso tuvo escaso efecto en la composición de ácidos grasos de ambos músculos. Los terneros del tratamiento 0%G presentaron contenidos inferiores de ácido  $\alpha$ -linolénico en el músculo LT y de DMA-C16:0 en músculo ST que aquéllos que habían sido alimentados con guisante.
5. La inclusión de guisante en el pienso no afectó a los AGS, AGMI y AGPI, pero en ambos músculos afectó al ratio n-6:n-3, siendo inferior en la carne de los terneros 30%G que en el resto, y por tanto, más recomendable desde el punto de vista de la salud humana.
6. La oxidación lipídica se vio afectada por la interacción entre la tasa de inclusión de guisante y la exposición al oxígeno. Esta fue mayor en la carne de los terneros

### *Conclusiones*

15%G a partir del 6° día de exposición, lo que podría asociarse al grado de insaturación ligeramente superior de su grasa.

## **CONCLUSIONS**

Based on the results obtained in the present work, the pea can totally or partially substitute the soybean in the fattening concentrate of young bulls because it does not affect or it has a slightly positive effect on meat quality.

From the present work, the following partial conclusions can be drawn:

1. The color of the longissimus thoracis muscle was affected in a small extent by the inclusion of pea in the concentrate. Luminosity and hue angle were only affected by the time of exposure to oxygen, whereas redness ( $a^*$ ), yellowness ( $b^*$ ) and chroma ( $C^*_{ab}$ ) were affected by the interaction between the inclusion of pea and the time of exposure to oxygen. The meat of 15%G bulls had a higher value of  $a^*$ ,  $b^*$  and  $C^*_{ab}$  on day 0 and lower  $C^*_{ab}$  on day 11 and  $a^*$  on day 14.
2. The inclusion of pea in the concentrate had a different effect on the maximum stress in the two muscles studied. In LT muscle, tenderness was lower in 0%G bulls than in their counterparts, whereas tenderness in ST muscle was lower in 30%G than in 45%G bulls.
3. The chemical composition was not affected by the inclusion of pea except for the content of crude fat in the ST muscle, which was lowest in 45%G bulls.
4. The inclusion of pea had little effect on the fatty acid composition of both muscles. The 0%G bulls had lower contents of  $\alpha$ -linolenic acid in the muscle LT and of DMA-C16:0 in the ST muscle than those that had been fed with pea.
5. The inclusion of pea did not affect the total saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in both muscles, but affected the ratio n-6: n-3, being lower in the 30%G bulls than in the other bulls, and therefore, more recommendable from the point of view of human health.
6. Lipid oxidation was affected by the interaction between the inclusion rate of pea and exposure to oxygen. It was greater in the meat 15%G bulls from the 6<sup>th</sup> day of exposure, which could be associated with the slightly higher degree of unsaturation of their fat.

## 6 **BIBLIOGRAFÍA**

- A.O.A.C. 1999. Official methods of analysis. In W. Horwitz, & G. Latimer (Eds.) (16th ed.). Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemist.
- A.O.C.S. 2005. Approved procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. In: American Oil Chemists Society (ed.) Am 5-04. AOCS Press, Urbana, EEUU.
- Albertí P., Ripoll G., Albertí C. y Panea, B. (2016). Clasificación objetiva del color de la carne de las denominaciones de venta de vacuno. Unidad de Tecnología en la Producción Animal, CITA de Aragón. *Eurocarne*, N° 244. Marzo 2016.
- Amine, M. (2015). Efecto de la alimentación sobre la calidad de la carne de vacuno en la IGP “Carne de Ávila” (Tesis de Master). Centro Internacional de altos estudios Agronómicos Mediterráneos. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza. Universidad de Zaragoza. Pág. 62.
- Bertolín, J.R., Joy, M., Rufino-Moya, P.J., Lobón, S. y Blanco, M. (2018) Simultaneous determination of carotenoids, tocopherols, retinol and cholesterol in ovine lyophilised samples of milk, meat, and liver and in unprocessed/raw samples of fat. *Food Chemistry* 257 (2018) 182–188.
- Blanco, M., Casaus, I., Ripoll, G., Panea, B., Albertí, P. y Joy, M., (2010). Lucerne grazing compared with concentrate-feeding slightly modifies carcass and meat quality of young bulls. *Meat Sci* 84, 545-552.
- Blanco, M., Joy, M., Bernués, A., Casasús, I. y Villalba, D. (2015). Interés de la introducción del guisante en las dietas de cebo de rumiantes. *Mundo Ganadero* Septiembre/Octubre `15.
- Blanco, M., Ripoll, G., Albertí, P., Sanz, A., Revilla, R., Villalba, D. y Casasús, I. (2008). Effect of early weaning on performance, carcass and meat quality of spring-born bull calves raised in dry mountain areas. *Livestock Science* 115: 216-234.

## Bibliografía

- Cañeque, V. y Sañudo, C. (2005). Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INA: Serie ganadera. N°3-2005.
- Colonna, M.A., Giannico, F., Marsico, G., Vonghia, G., Ragni, M. y Caputi, A. (2014). Effect of pea (*Pisum sativum* L.) as alternative to soybean meal on the productive performances and meat quality traits of Merino crossbred lamb types. *Progress in Nutrition* 2014; 16: 39-51.
- Corazzin, M., Piasentier, E., Saccà, E., Bazzoli, I. y Bovolenta, S. (2017). Organic meat quality of dual purpose young bulls supplemented with pea (*Pisum sativum* L.) or soybean. *Journal of the Science of Food and Agriculture* July 2017.
- Depetris, G.J., Pavan, E.F., Santini, J., Villarreal, E.L., Grigioni, G., Irurueta, M. y Carduza, F. (2006). Effect of type of pasture and time of supplementation on meat quality traits of grazing beef heifers. Buenos Aires, Argentina. *J. Anim. Sci. Vol. 84, Suppl. 1/J. Dairy Sci. Vol. 89, Suppl. 1.*
- Descalzo A.M., Insani E.M., Biolatto A., Sancho A.M., García P.T., Pensel N.A. y Josifovich J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci.* 70:35.
- Duinkerken, G.v., Bikker, P., Krimpen, M.M.v., Peet-Schwering, C.M.C.v.d. y Veldkamp, T. (2013). Feasibility of novel protein sources for livestock. *Book of Abstracts of the 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, Nantes, France, pp. 140.*
- Faustman, C., Cassens, R.G., Scheafer, D.M., Buege, D.R., Williams, S.N. y Sheller, K.K. (1989). Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary supplementation on vitamin E. *Journal of Food Science*, 54:858-862.
- Fernández, J. y Sánchez, D.C. (2014). Evaluación de la terneza de la carne de novillos brangus terminados a corral con 4, 7 y 14 días de maduración.



- Cuadernos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias*. Universidad Católica de Salta, vol. 2, 2014: 9-11.
- Fundación Española para el Desarrollo de Nutrición Animal (FEDNA). (2017). Guisantes primavera. Disponible en:  
[http://www.fundacionfedna.org/ingredientes\\_para\\_piensos/guisantes-primavera](http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/guisantes-primavera)
  - Greenwell, H. L., Jenkins, K. H. y MacDonald, J. C. (2017). Evaluating field peas as an energy source for growing and finishing beef cattle. *The Professional Animal Scientist* 34:202–209.
  - Güemes, N. (2007). Utilización de los derivados de cereales y leguminosas en la elaboración de productos cárnicos. Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. *NACAMEH, Vol. 1, No. 2, pp. 110-117, 2007*.
  - Gutierrez, K., Kasimanickam, R., Tibary, A., Gay J. M., Kastelic, J.P., Hall, J.B. y Whittier, W.D. (2014). Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural service. *Theriogenology* 81: 918-924.
  - Henriksson, M., Cederberg, C. y Swensson, C. (2014). Carbon footprint and land requirement for dairy herd rations: impacts of feed production practices and regional climate variations. *Animal* 8: 1329-1338.
  - Hinkle, J.H., Vasconcelos, J., Furman, S.A., de Mello Jr, A.S., Senaratne, L.S., Pokharel, S. y Calkins, C.R. (2010). Sensory Attributes of Beef from Steers Fed Field Peas. *Nebraska Beef Cattle Reports. Paper 567*.
  - Hoekstra, A.Y. y Mekonnen, M.M. (2012). The water footprint of humanity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 3232-3237.
  - Hörtenhuber, S.J, Lindenthal, T. y Zollitsch, W. (2011). Reduction of greenhouse gas emissions from feed supply chains by utilizing regionally produced protein sources: The case of Austrian dairy production. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91(6):1118-27 · April 2011.
  - Jenkins K.H., Vasconcelos J. T., Hinkle, J.B., Furman, S.A., de Mello, A.S., Jr., Senaratne, L.S., Pokharel, S. y Calkins, C.R. (2011). Evaluation of performance,

- carcass characteristics, and sensory attributes of beef from finishing steers fed field peas. *Journal of Animal Science* 89: 1167-1172.
- Jenkins, K.H, Vasconcelos, J.B., Hinkle, J.B., Furman, A., de Mello Jr., A.S., Senaratne, L.S., Pokharel, S. y Calkins C.R. (2009). Evaluation of performance, carcass characteristics, and sensory attributes of beef from finishing steers fed field peas. *J. Anim. Sci.* 2011. 89:1167–1172.
  - Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Henrik, H.N., Alves, B.J.R. y Morrison, M.J. (2012). Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 329-364.
  - Kanner, J., German, J.B. y Kinsella, J.E. (1987). Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 25:317-364.
  - Koohmaraie, M., Shackelford, S. y Wheeler, T. (1997). The biological basis of beef tenderness and potential approaches for its control and prediction. USDA-ARS, U.S. Meat Animal Research Center, Clay Center, Nebraska.
  - Lanza, M., Bella, M., Barbagallo, D., Fasone, V., Finocchiaro, L. y Priolo, L. (2003). Effect of partially or totally replacing soybean meal and maize by chickpeas (*Cicer arietinum* L.) in lamb diets: growth performances, carcass and meat quality. *Anim. Res.*, 52 (3): 263-270.
  - Lanza, M., Fabro, C., Scerra, M., Bella, M., Pagano, R., Maria, D., Brogna, R. y Pennisi, P. (2011). Lamb meat quality and intramuscular fatty acid composition as affected by concentrates including different legume seeds. *Italian Journal of Animal Science* 10:e18.
  - Lardy, G.P., Loken, B.A., Anderson, V.L., Larson, D.M., Maddock-Carlin, K.R., Ilse, B.R., Maddock, R., Leupp, J.L., Clark, R., Paterson, J.A. y Bauer, M.L. (2009). Effects of increasing field pea (*Pisum sativum*) level in high-concentrate diets on growth performance and carcass traits in finishing steers and heifers. *Journal of Animal Science* 87: 3335-3341.

## Bibliografía

- Lee, M.R., Tweed, J.K., Kim, E.J. y Scollan, N.D. (2012). Beef, chicken and lamb fatty acid analysis- a simplified direct bimethylation procedure using freeze-dried material. *Meat Science* 92: 863-866.
- Maddock, K.R., Anderson, V.L., Larson, D.M., Ilse, B.R., Maddock, R.J., Bauer, M.L. y Lardy, G.P. (2013). Effects of increasing field pea (*Pisum sativum*) level in high- concentrate diets on meat tenderness and sensory taste panel attributes in finishing steers and heifers. *The Professional Animal Scientist* 29 (2013):33–38.
- Mataix, J. y Gil, A. Libro Blanco de los Omega-3. Los ácidos grasos poliinsaturados Omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud. (2004). Editorial médica panamericana.
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2017). Caracterización del sector vacuno de carne en España. Año 2016.
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2018). Informe trimestral del sector vacuno de carne. Marzo 2018.
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2009). Sistemas de explotación de carne. Disponible en:  
<https://www.mapama.gob.es/en/ministerio/servicios/informacion/plataforma-de-conocimiento-para-el-medio-rural-y-pesquero/observatorio-de-tecnologias-probadas/sistemas-prodnut-animal/bovino-carne.aspx>
- Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). (2017). Raza Bovina Parda de la Montaña. Censo de la Raza Parda de Montaña. Disponible en:  
<https://www.mapama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/autoctona-fomento/bovino/parda-montana/iframe-ejemplo-arca.aspx>
- Oliver, R. (2017). Estudio de la inclusión de guisante en la dieta de cebo sobre la calidad de la canal y la carne de corderos de razas Ojinegra de Teruel y Rasa

- Aragonesa. Trabajo Fin de Master, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
- Peluffo, M. y Monteiro, M. (2002). Terneza: una característica a tener en cuenta. *Revista del plan agropecuario*, Julio 2002.
  - Pesta, A.C., Titlow, A.H., Hansen, J.A., Berger, A.L., Furman, S.A., Luebke, M.K., Erickson, G. E. y Jenkins, K.H. (2012). Effects of feeding field peas in combination with distillers grains plus solubles in finishing and growing diets on cattle performance and carcass characteristics. *The Professional Animal Scientist* 28:534–540.
  - Petit, H.V., Rioux, R. y Ouellet, D.R. (1997). Milk Production and Intake of Lactating Cows Fed Raw or Extruded Peas. *Journal of dairy science* 80: 3377-3385.
  - Peyraud, J.L., Taboada, M. y Delaby, L. (2014). Integrated crop and livestock systems in Western Europe and South America: A review. *European Journal of Agronomy* 57: 31-42.
  - Real Decreto 1047/1994, de 20 de mayo, relativo a las normas mínimas para la protección de terneros.
  - Renerre, M. (1986). Influence des facteurs biologiques et technologiques sur la couleur de la viande bovine. Bull. Tech. C.R.Z.V. Theix, *INRA*, 65: 41-45.
  - Resconi, V.C., Campo, M.M. y Richardson R.I. (2007). Relación entre el contenido en vitamina E y la oxidación lipídica en carne de vacuno de diferentes sistemas de producción. *ITEA*, Vol. Extra N.º 28. Tomo II, 789-791.
  - Revilla, I. y Vivar-Quintana, A.M. (2006). Effect of breed and ageing time on meat quality and sensory attributes of veal calves of the “Ternera de Aliste” Quality Label. Food Technology Area, E.P.S de Zamora, Universidad de Salamanca. *Meat Science* 73: 189–195.
  - Ripoll G., Blanco M., Albertí P., Panea B., Joy M. y Casasús I. (2014). Effect of two Spanish breeds and diet on beef quality including consumer preferences. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94: 983–992.

- Ripoll, G., Albertí, P., Casasus, I. y Blanco, M. (2013a). Instrumental meat quality of veal calves reared under three management systems and color evolution of meat stored in three packaging systems. *Meat Science*, 93(2), 336-343.
- Ripoll, G., González-Calvo, L., Molino, F., Calvo, J.H. y Joy, M. (2013b). Effects of Finishing Period Length with Vitamin E Supplementation and Alfalfa Grazing on Carcass Color and the Evolution of Meat Color and the Lipid Oxidation in Light Lambs. *Meat Science* 93, 906–913.
- Ripoll, G., Panea, B. y Albertí, P. (2012). Apreciación visual de la carne bovina y su relación con el espacio de color CIELab ITEA Información Técnica Económica Agraria, 108(2), 222-232.
- Rotger, A., Ferret, A., Calsamiglia, S. y Manteca, X. (2006). In situ degradability of seven plant protein supplements in heifers fed high concentrate diets with different forage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology* 125: 73-87.
- Sánchez, A., Torrescano, G.R, Camou, J.P., González, N.F. y Hernández, G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *NACAMEH Vol. 2, No. 2, pp. 124-159, 2008.*
- Sanz, A., Casasús, I., Bernués, A., Bergua, A., Revilla, R. y Vijil, E. (2001). La raza Parda de Montaña en Aragón. *Surcos de Aragón*, 73: 32-34.
- Scerra, M., Caparra, P., Foti, F., Cilione, C., Zappia, G., Motta, C. y Scerra, V. (2011). Intramuscular fatty acid composition of lambs fed diets containing alternative protein sources. *Meat Science*, 87 (3): 229-233.
- Soto-Navarro, S.A., Encinias, A.M., Bauer, M.L., Lardy, G.P. y Caton, J.S. (2012). Feeding value of field pea as a protein source in forage-based diets fed to beef cattle. *Journal of Animal Science* 90: 585-591.
- Steen-Olsen, K., Weinzettel J., Cranston, G., Ercin, A.E. y Hertwich, E.G. (2012). Carbon, land, and water footprint accounts for the european union: Consumption, production, and displacements through international trade. *Environmental Science and Technology* 46: 10883-10891.

## Bibliografía

- Sukhija, S.P. y Palmquist, D.L. (1988). Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36, 1202-1206.
- Teira, G.A. (2004). Actualidad y perspectivas de un componente principal de la calidad de carnes bovinas: la terneza. Universidad Nacional de Entre Ríos. Concepción del Uruguay, Argentina. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, vol. XV, núm. 28, mayo, 2004, pp. 215-244.
- Turner, T.D., Karlsson, L., Mapiye, C., Rolland, D.C., Martinsson, K. y Dugan, M.E.R. Dietary influence on the m. longissimus dorsi fat acid composition of lambs in relation to protein source. (2012). *Meat Science* 91:) 472-477.
- UNE-EN ISO. 2016. UNE-EN ISO 12966-1, 12966-2, 12966-3 y 12966-4.
- Valero, T., del Pozo, S., Ruiz, E., Ávila, J.M. y Varela, G. (2010). Guía nutricional de la carne. Fundación Española de la Nutrición y Federación Madrileña de Detallistas de la Carne.
- van Krimpen, M.M., Bikker, P., van der Meer, I.M., van der Peet-Schwering, C.M.C. y Vereijken, J.M. (2013). Cultivation, processing and nutritional aspects for pigs and poultry of European crops as alternatives for imported soybean products. Report no. 662, Wageningen UR Livestock Research. 63 págs.
- Van Soest, P., J. Robertson, y B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science* 74: 3583-3597.
- Vestergaard, M., Therkildsen, M., Henckel, P., Jensen, L.R., Andersen, H.R. y Sejrsen, K. (2000). Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. *Meat Science* 54: 187-195.
- Voisin, A.S., Guéguen, J., Huyghe, C., Jeuffroy, M.H., Magrini, M.B., Meynard, J.M., Mougél, C., Pellerin, S. y Pelzer, E. (2014). Legumes for feed, food, biomaterials and bioenergy in Europe: A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34: 361-380.

## *Bibliografia*

- Wood, J., Richardson, R., Nute, G., Fisher, A., Campo, M., Kasapidou, E., Sheard, P. y Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat science* 66:21-32.
- Wyszecki, G., y W. G. Styles. (1982). Colour Science: Concepts and methods, quantitative data and formulae. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc.